

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico
Curso de Biotecnologia

Trabalho de Conclusão de Curso



**Relação entre infertilidade e o estilo de vida em mulheres e as alternativas
para a obtenção de gestação.**

Luana Pescke Soares

Pelotas, 2021.

Luana Pescke Soares

**Relação entre infertilidade e o estilo de vida em mulheres e as alternativas
para a obtenção de gestação.**

Trabalho acadêmico apresentado ao
Curso de Biotecnologia da
Universidade Federal de Pelotas,
como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Thomaz Lucia Jr.

Pelotas, 2021.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S676r Soares, Luana Pescke

Relação entre infertilidade e o estilo de vida em mulheres e as alternativas para a obtenção de gestação. / Luana Pescke Soares ; Thomaz Lucia Junior, orientador. — Pelotas, 2021.

62 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Infertilidade feminina. 2. Hábitos. 3. Ovócito. 4. Embrião. I. Lucia Junior, Thomaz, orient. II. Título.

CDD : 612.63

Luana Pescke Soares

Relação entre infertilidade e o estilo de vida em mulheres e as alternativas para a obtenção de gestação.

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 09 de junho de 2021.

Banca examinadora:

.....
Prof. Dr. Thomaz Lucia Jr (Orientador)

Doutor em Medicina Veterinária pela University of Minnesota, EUA.

.....
Prof^a. Dr^a. Mariana Härter Remião

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.

.....
Prof^a. Fernanda Souza Peruzzato

Mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento pela Universidade Federal De Santa Catarina.

.....
M. José Victor Cardoso Braga

Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas.

Dedico esse trabalho aos meus pais que me permitiram a realização dele e ao meu grande amigo e namorado que esteve ao meu lado durante todo o caminho.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, que me deram o suporte de uma vida inteira para que eu pudesse chegar aqui hoje;

Agradeço ao William por ter me apoiado nos momentos mais difíceis, ter me incentivado a continuar e dividido os momentos mais felizes comigo;

Agradeço a minha tia-avó Divilma que foi de suma importância no início dessa caminhada;

Agradeço aos meus amigos que estiveram comigo ao longo desses 4 anos e fizeram deles anos mais felizes;

Agradeço em especial a minha grande amiga Fernanda Carneiro, que me estendeu a mão quando eu mais precisei;

Agradeço ao Luiz por estar comigo durante a escrita desse trabalho me ouvindo e ajudando;

Agradeço ao Mestre José Victor por ter me ensinado a amar ainda mais a embriologia e acima de tudo por ter sido um grande amigo desde 2018;

Agradeço ao Prof. Thomaz Lucia Jr pela confiança quando me aceitou como aluna de iniciação científica, por sempre ter me ajudado quando precisei ao longo da graduação, pelas palavras de incentivo e pela ótima orientação;

Agradeço a Prof^a Mariana Remião por ter compartilhado seu conhecimento e amor pela biotecnologia conosco, e principalmente por ter sido uma ótima conselheira quando eu precisei;

Agradeço a Prof^a Fernanda Peruzzato por ter aceitado fazer parte do finalzinho dessa caminhada junto comigo e por ser uma grande inspiração;

Agradeço ao ReproPel por ter me aceitado, me ensinado coisas maravilhosas e me proporcionado muitos momentos bons;

Agradeço ao colegiado da Biotecnologia por sempre resolver os problemas que surgiram;

Agradeço a todos os professores do curso de biotecnologia por todo o conhecimento passado;

Agradeço a Universidade Federal de Pelotas pela estrutura e o ensino público de qualidade;

Agradeço a todos os servidores da universidade;

Agradeço ao CNPq e a UFPel pela concessão das bolsas;

Agradeço a todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram para que eu conseguisse chegar até aqui;

E por fim, agradeço a mim mesma pela persistência de continuar.

Muito Obrigada!

Você é uma ótima pessoa Sr. Bolseiro, e tenho muito apreço por você, mas é apenas um camarada bem pequeno num vasto mundo afinal de contas!

- J. R. R. Tolkien.

RESUMO:

SOARES, Luana Pescke. **Relação entre infertilidade e o estilo de vida em mulheres e as alternativas para a obtenção de gestação**. 2021. 62f. Trabalho de conclusão de curso, curso de Bacharelado de Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

A Organização Mundial da Saúde sugere que cerca de 48 milhões de casais sofrem com a infertilidade no mundo. Mulheres acometidas a essa condição podem apresentar um maior nível de tensão e estresse em seus relacionamentos, o que leva ao isolamento e um grande sofrimento mental. As desordens ovarianas, endometrioses e síndrome dos ovários policísticos ainda são grandes causas da infertilidade feminina, porém estudos evidenciam cada vez mais que o estresse proveniente do estilo de vida moderno, maus hábitos alimentares e o consumo de substâncias como álcool e tabaco podem alterar a fisiologia reprodutiva e aumentar os índices de infertilidade. Sendo assim, o objetivo desse trabalho é apresentar de forma compilada como os hábitos e as questões psicológicas influenciam na fertilidade feminina. Foram selecionados estudos realizados entre os anos de 2010 e 2021, e dentre os resultados encontrados estão: os hábitos estudados influenciam de forma negativa a fertilidade feminina, levando a efeitos deletérios na fertilidade e gravidez, culminando para casos de menopausa precoce e abortos. No entanto, apesar da infertilidade ainda ser um problema grave que afeta uma grande parcela da população, as biotécnicas da reprodução assistida buscam aumentar as taxas de gravidez dos casais inférteis. A fertilização *in vitro*, traz uma taxa de 50% a 70% de sucesso; a injeção intracitoplasmática de espermatozoides auxilia quando existe baixa disponibilidade de espermatozoides; e as técnicas de criopreservação buscam preservar a fertilidade. No entanto apesar de existir uma grande gama de estudos relacionados com as causas da infertilidade, ainda existem assuntos que precisam ser abordados mais a fundo, deixando margem para realização de mais pesquisas.

Palavras-Chaves: infertilidade; feminina; hábitos; embrião; ovócito.

ABSTRACT:

SOARES, Luana Pescke. **Relationship between infertility and lifestyle in women and alternatives for obtaining a pregnancy.** 2021. 62f. Course completion work, Bachelor of Biotechnology course. Federal University of Pelotas. Pelotas, RS, Brazil.

The World Health Organization suggests that around 48 million couples suffer from infertility worldwide. When women are affected with this condition, they can present a greater level of tension and stress in their relationships, which leads to isolation and great mental suffering. Ovarian disorders, endometriosis and polycystic ovary syndrome are still major causes of female infertility, but studies increasingly show that stress from modern lifestyles, poor eating habits and the consumption of substances such as alcohol and tobacco can change the physiology reproductive performance and increase infertility rates. Thus, the objective of this study is to present in a compiled form how habits and psychological issues influence female fertility. Studies carried out between 2010 and 2021 were selected, and among the results found are: the habits studied negatively influence female fertility, leading to deleterious effects on fertility and pregnancy, culminating in cases of early menopause and miscarriages. However, despite infertility still being a serious problem that affects a large portion of the population, assisted reproduction biotechniques seek to increase the pregnancy rates of infertile couples. In vitro fertilization brings a 50% to 70% success rate; intracytoplasmic sperm injection helps when there is low sperm availability; and cryopreservation techniques seek to preserve fertility even after cytotoxic treatments. However, although there are a wide range of studies related to the causes of infertility, there are still issues that need to be better addressed, allowing further research to be carried out.

Keywords: Infertility; Female; Habits; Embryo; Oocyte.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação simplificada dos processos de foliculogênese e ovogênese.....	21
Figura 2- Representação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal.	22
Figura 3- Esquematização do processo de fertilização.	24
Figura 4- Esquematização dos efeitos tóxicos causados pela exposição de mulheres em idade reprodutiva aos componentes do cigarro.	28
Figura 5- Efeitos negativos causados pelo consumo de cigarro durante a gravidez.....	30
Figura 6- Representação da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais..	37
Figura 7- Processo de recuperação de ovócitos intrafoliculares.	42
Figura 8- Métodos de preparo de sêmen para fertilização in vitro.....	43
Figura 9- Representação da incubação dos ovócitos.....	44
Figura 10- Processo de retirada das células do cumulus e da corona radiada dos ovócitos antes da ICSI..	44
Figura 11- Processo de Injeção intracitoplasmática de espermatozoide.....	45
Figura 12- Fatores que devem estar em harmonia durante o cultivo embrionário..	46
Figura 13- Processo de transferência embrionária.....	47

Lista de Siglas e Símbolos

%	Porcentagem
>	Maior
°C	Grau Celsius
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AMPC	Adenosina monofosfato cíclica
ATP	Adenosina trifosfato
BaP	Benzo(a)pireno
CCO	Complexo <i>cumulus-oophurus</i>
Cd	Cádmio
cm	Centímetro
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EROS	Espécie reativa de oxigênio
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
HHA	Eixo Hipófise-Hipotálamo-Adrenal
HHG	Eixo Hipófise-Hipotálamo-Gonodal

ICSI	Injeção intracitoplasmática de espermatozoide
IMC	Índice de massa corporal
LH	Hormônio Luteinizante
miRNA	Micro RNA (Ácido Ribonucleico)
MIV	Maturação <i>in vitro</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
PrOH	1,2 Propanodil
RNAm	RNA mensageiro
SAF	Síndrome do Alcoolismo Fetal
TNFR	Fator de Necrose Tumoral
μl	Microlitro

Sumário

1. Introdução	15
2. Justificativa	18
3. Objetivos.....	19
3.1 Objetivo geral:.....	19
3.2 Objetivos específicos:	19
4. Materiais e métodos.....	20
5. A foliculogênese e a ovogênese	21
6. A embriogênese.....	24
7. A Infertilidade.....	27
7.1 A infertilidade e o cigarro	28
7.2 A infertilidade e o consumo de álcool	31
7.3 A infertilidade e a alimentação.....	34
7.4 A infertilidade e o estresse.....	37
8. Técnicas de Reprodução Assistida.....	40
8.1 Fertilização <i>in vitro</i> clássica	41
8.2 Injeção intracitoplasmática de espermatozoide	44
8.3 Cultivo embrionário	45
8.4 Transferência embrionária	46
8.5 Criopreservação de gametas e embriões	48
Considerações finais	50
Referências Bibliográficas	52

1. Introdução

A Organização Mundial da Saúde (OMS) sugere que cerca de 50 a 80 milhões de pessoas sofrem com a infertilidade no mundo, causando impactos psicológicos negativos em famílias e em comunidades. Essa condição pode ser acarretada por uma série de diferentes fatores que afetam tanto o sistema reprodutor masculino quanto o feminino (WHO, 2020). Clinicamente, a condição de infertilidade é definida pela inaptidão de mulheres entre 18 e 35 anos de idade em conceber uma gravidez após um período de 12 meses sem sucesso (STRAUSS E BARBIERI, 2019), já em mulheres acima de 35 anos, esse período diminui para 6 meses (BRUGO-OLMEDO, CHILLIK E KOPELMAN, 2000). No entanto esse trabalho abordará apenas fatores que afetam o sistema reprodutor feminino, com o propósito de delimitar o tema abordado nessa revisão.

As principais causas de infertilidade feminina estão associadas com desordens ovarianas, doenças nas tubas uterinas, endometrioses, aos hábitos alimentares e índice de consumo de drogas. Nos últimos anos, é notável uma alta na procura de clínicas de reprodução assistida (SBRA, 2020). Pode-se relacionar esse aumento com alguns fatores cotidianos. A educação proporcionou um aumento da participação das mulheres nas atividades profissionais, trazendo a necessidade constante de especialização e acarretando no adiamento da gravidez até por volta dos 35 anos, quando se inicia o declínio biológico da fertilidade. (BRUGO-OLMEDO, CHILLIK E KOPELMAN, 2000; ROUPA et al., 2009).

A reprodução humana tem uma forte ligação com o metabolismo energético, e por isso, se torna imprescindível uma alimentação balanceada durante a infância, início da puberdade e vida adulta (BALA et al., 2021; PASQUALI, PATTON E GAMBINERI, 2007). A obesidade está ligada com irregularidades menstruais, anovulação, resistência à insulina e síndrome do ovário policístico, além de antecipar a idade da menopausa (BALEN E ANDERSON, 2007; YOUNESS, 2018). Em contrapartida, transtornos alimentares que causam uma perda excessiva de peso geralmente coexistente com outros sintomas como depressão, ansiedade e estresse, afetam de forma negativa a fertilidade (BALA et al., 2021). Uma vez que o sistema

reprodutivo é extremamente sensível a estresses fisiológicos e psicológicos, essas condições podem estar associadas a casos de amenorreia hipotalâmica, de oligomonorreia e de deficiência da fase lútea, condição na qual o corpo lúteo não produz níveis suficientes de progesterona capazes de manter a função normal de implantação embrionária pelo endométrio (BALA et al., 2021).

Eventos estressantes derivados do estilo de vida tem um impacto negativo para o bem-estar individual. Mulheres inférteis tendem a apresentar um maior nível de depressão, ansiedade e estresse quando comparadas com mulheres férteis (PALOMBA et al., 2018). Em mulheres que não sofrem com a infertilidade, os níveis de glicocorticoides induzidos pelo estresse prejudicam a competência do ovócito, podendo também causar mudanças na composição do fluido folicular, alteração do microambiente ovocitário, indução de apoptose nas células do epitélio ovariano, dentre outros danos (JOSEPH E WHIRLEDGE, 2017). A depressão está correlacionada com altos níveis de estresse, sendo observado que o sofrimento pode deixar a receptividade uterina mais pobre. Esses sintomas estão presentes em aproximadamente 37% das pacientes que buscam tratamento em clínicas de fertilização assistida (PALOMBA et al., 2018).

Cerca de 2,3 milhões de jovens consomem álcool e cerca de 22,1% da população possui o hábito de fumar (Agência Brasil, 2018; INCA, 2021). O uso cotidiano, e muitas vezes combinado, dessas substâncias tem um impacto degradante na saúde dos usuários e um potencial prejudicial a gerações futuras (BUDANI E TIBONI, 2017). Em mulheres que buscam a maternidade, o hábito de fumar é uma preocupação em particular, pois as substâncias químicas contidas no cigarro, tais como nicotina, hidrocarboneto policíclicos aromáticos (HPAs) e cádmio, estão associadas com diminuição drástica da fertilidade, aumento do risco de aborto espontâneo, casos de gravidez ectópica, além de incluir quadros de menopausa precoce (BUDANI E TIBONI, 2017). Apesar do consumo de álcool ser mais socialmente aceito em períodos que antecedem a concepção, o consumo frequente e elevado traz impactos no ciclo menstrual, distúrbios hormonais e efeitos negativos na maturação do ovócito (SHAW; STEEGERS; VERBIEST, 2020).

Sabendo que o desejo de muitos casais em alcançar a maternidade é interrompido por algumas características fisiológicas e psicológicas, esse estudo

consiste em uma revisão bibliográfica que abordará diversos fatores responsáveis pela infertilidade feminina, tendo como base principal os conhecimentos científicos acerca dos assuntos que envolvem a reprodução humana e os hábitos pessoais. O trabalho está dividido em capítulos que abordarão os processos de foliculogênese e ovogênese, embriogênese, desenvolvimento embrionário inicial e implantação, bem como as principais causas de infertilidade relacionadas ao estilo de vida durante essas etapas. O último capítulo visa explorar como as técnicas de reprodução assistida auxiliam no tratamento da infertilidade.

2. Justificativa

A realização desse trabalho foi impulsionada pelo fato de a reprodução ser um desejo humano bastante almejado, e as condições de infertilidade podem vir a causar inúmeros problemas psicológicos e sociais (BAKHTIYAR et al., 2019). É comum se observar em pacientes de clínicas de reprodução assistida, um maior nível de tensão e estresse em seus relacionamentos derivados dos períodos antecedentes ao início do tratamento (DURAL et al., 2016). Esse problema se apresenta através da criação de estigmas sociais que podem levar ao isolamento dessas mulheres, acarretando em sofrimento mental (COUSINEAU E DOMAR, 2007).

As desordens ovarianas, endometriose, síndromes dos ovários policísticos, dentre outras doenças, ainda representam uma parcela expressiva das causas de infertilidade feminina (STRAUSS E BARBIERI, 2019). Porém a literatura evidencia cada vez mais que o estresse proveniente do estilo de vida moderno, maus hábitos alimentares e consumo de substâncias como álcool e tabaco podem alterar a fisiologia reprodutiva, levando à infertilidade (PALOMBA et al., 2018; SHARMA et al., 2013).

Além disso, fatores sociais, culturais e econômicos decorrentes da atualidade provocaram mudanças na idade da maternidade, com isso o número de mulheres que tentam engravidar em uma faixa etária na qual o sistema reprodutor feminino começa a experimentar o declínio (entre os 30 e 40 anos) vem aumentando (MOLINA-GARCÍA et al., 2019).

Trazendo à tona a problemática descrita acima, torna-se de suma importância uma avaliação mais aprofundada das causas da infertilidade feminina. Faz-se necessária a exposição de forma compilada dos fatores responsáveis por causar essa condição, uma vez que o seu conhecimento pode vir a evitar e tratar esse quadro. Também é importante apresentar as alternativas existentes na medicina a fim de auxiliar as mulheres que apresentam casos de infertilidade sem reversão e buscam por tratamento.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral:

- Mostrar como os hábitos e questões psicológicas presentes nas mulheres influenciam em seu potencial de fertilidade.

3.2 Objetivos específicos:

- Relatar estudos que relacionam o consumo de álcool e cigarros, com a diminuição da fertilidade feminina;
- Expor como os hábitos alimentares podem influenciar a fertilidade;
- Identificar se quadros de distúrbios psicológicos como depressão, ansiedade e estresse podem estar relacionados com a infertilidade nas mulheres;
- Mostrar como os avanços das técnicas de reprodução assistida podem auxiliar mulheres que almejam a maternidade.

4. Materiais e métodos

O estudo foi conduzido com caráter de revisão bibliográfica, sendo compilados artigos científicos publicados no período definido entre 2010 e 2021, salvo informações relevantes encontradas antes destas datas e as quais serão inclusas.

As bases de dados utilizadas para obtenção do material usado na pesquisa foram PubMed, NCBI e Google Acadêmico. A pesquisa será realizada em inglês através das palavras-chaves: *woman, female, infertility, habits, cigarette, alcohol, oogenesis, stress and depression, assisted reproduction*. Os artigos serão escolhidos e revisados com base no assunto, podendo ser incluídos estudos de caso-controle, revisões e estudos de cunho experimental.

Também terá suma importância a utilização de livros didáticos, para pontuar os conceitos já bem embasados didaticamente, tais como a ovogênese, fisiologia reprodutiva, dentre outros.

5. A foliculogênese e a ovogênese

A foliculogênese e a ovogênese (Figura 1) são processos concomitantes que ocorrem nos ovários, se caracterizando pela evolução dos folículos primordiais em folículos ovulatórios e pela maturação nuclear e citoplasmática do ovócito (COWARD E WELLS, 2013; HSUEH et al., 2015; LAROSE et al., 2019).

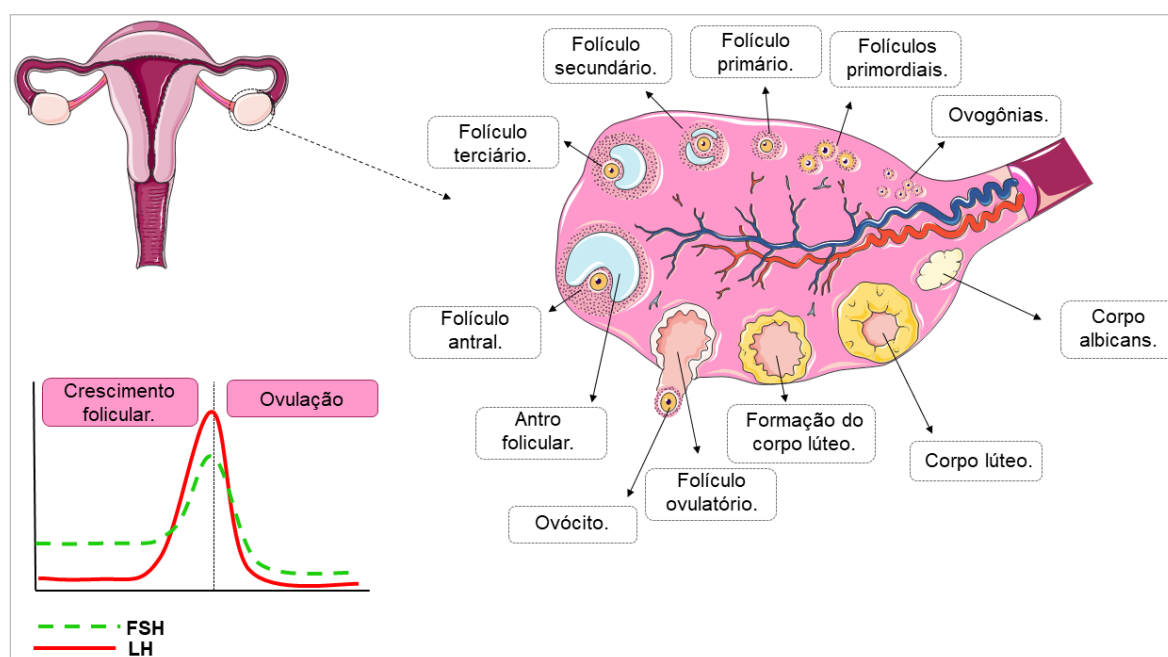


Figura 1- Representação simplificada dos processos de foliculogênese e ovogênese, com representação gráfica dos níveis de Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e do Hormônio Luteinizante (LH). Baseado em Coward E Wells, 2013, p.41.

Os folículos primordiais são formados no estágio fetal, ao redor da 20^a semana de desenvolvimento. Cada mulher nasce com um estoque aproximado de 1 milhão de folículos primordiais, que serão a única fonte de ovócitos da vida adulta (LAROSE et al., 2019).

O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG) é responsável por controlar os processos de foliculogênese e ovogênese. O hipotálamo secreta o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que age na hipófise anterior, estimulando a secreção de LH e FSH pelas células gonadotróficas (Figura 2). Essas gonadotrofinas são responsáveis pelo desenvolvimento dos folículos (FINN, 2020; RACHDAOUI E SARKAR, 2013).

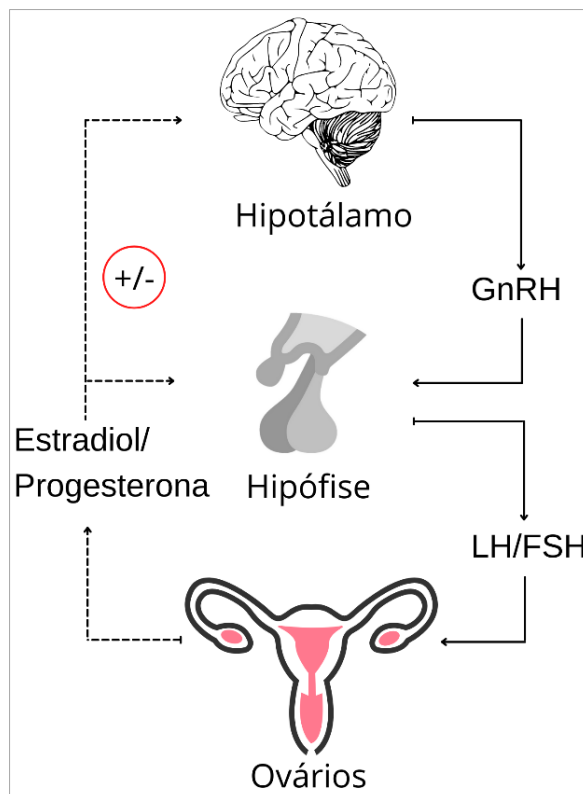


Figura 2- Representação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. A secreção ovariana de estradiol poderá promover retroalimentação positiva ou negativa dependendo da fase do ciclo e a secreção de progesterona fará o papel de retroalimentação negativa. Baseado em Emanuele e Emanuele, 2002.

O processo de formação do folículo ovariano é denominado como foliculogênese. Ao longo desse processo, as ovogônias sofrem consecutivas divisões meióticas e se transformam em ovócitos. Cada folículo contém apenas um ovócito. Nos folículos primordiais, os ovócitos estão envoltos por uma camada de células escamosas da pré-granulosa. Quando essas células se tornam cuboides, os folículos passam a ser conhecidos como folículos primários. Essas células cuboides seguem se proliferando até a formação de uma segunda camada ao redor do ovócito. Esse crescimento requer uma complexa comunicação entre as células da granulosa e o ovócito para formação dos folículos secundários (COWARD E WELLS, 2013).

O processo de formação do antro folicular consiste na separação entre as células que irão formar o complexo *cumulus-oophorus* (CCO), e as células da granulosa, que se alinham na parede do folículo para fornecimento de hormônios esteróides e produção do fluido folicular. Esse processo é responsável por prover o microambiente crucial para o desenvolvimento do ovócito, ocorrendo no estágio de folículo terciário (BUDANI E TIBONI, 2017; COWARD E WELLS, 2013; RIMON-DAHARI et al., 2016).

Durante o ciclo reprodutivo, a maior parte da coorte de folículos recrutados entram em atresia, e apenas um se torna o folículo dominante capaz de liberar um ovócito viável para fertilização. Geralmente o folículo dominante é o que apresenta vascularização mais rica, ficando exposto a uma alta concentração de gonadotrofinas (RIMON-DAHARI et al., 2016). O FSH estimula o desenvolvimento do folículo dominante no ovário e a produção do hormônio estradiol. O aumento do estradiol, é responsável pelo aumento dos níveis de LH e FSH que ocorrem no meio do ciclo menstrual (retroalimentação positiva) (FINN, 2020; RACHDAOUI E SARKAR, 2013). Após a ovulação, o hormônio luteinizante (LH), induz a transformação das células foliculares em corpo lúteo, uma glândula endócrina transiente responsável por secretar progesterona, formada pelas células da granulosa e da teca. Esse processo é chamado de luteinização (TOMAC, CEKINOVI E ARAPOVI, 2011).

Na ovogênese, o processo de formação do ovócito se inicia com a migração das células germinativas primordiais para a crista genital indiferenciada onde estas células se tornam ovogônias. Por volta da 10^a semana de gestação, as ovogônias sofrem várias divisões meióticas e começam a serem envoltas por uma camada de células da granulosa. Inicia-se então a meiose, que resulta na formação do ovócito primário, a célula progenitora feminina (COWARD E WELLS, 2013; STRAUSS E BARBIERI, 2019).

A superfície dos ovócitos primários possui ligações do tipo GAP com as células da granulosa, responsáveis por mediar a sinalização de moléculas e nutrientes. Esses ovócitos passam por um período de crescimento, onde inicia-se a formação da zona pelúcida, que tem uma forte correlação com o desenvolvimento folicular. Esse crescimento é seguido pela maturação nuclear e citoplasmática, que consiste na redistribuição das organelas, no aumento do número de mitocôndrias, reorganização do citoesqueleto e maturação molecular (COWARD E WELLS, 2013; MARTEIL, RICHARD-PARPAILLON E KUBIAK, 2009). No interior do folículo dominante, o ovócito primário progride até o estágio de diplóteno da prófase I, em seguida entra em parada meiótica, passando a ser chamado de ovócito em estágio de vesícula germinativa. Essa fase é conhecida como fase proliferativa de um ciclo menstrual. Sob influência do LH, o ovócito progride até finalizar a meiose I. A partir desse estágio, é considerado maturado, também chamado de ovócito secundário, avançando até o

estágio parada meiótica de metáfase II, no qual se mantém até a fertilização (STRAUSS; BARBIERI, 2019).

6. A embriogênese

O evento que sucede a foliologênese e a ovogênese é a fertilização (Figura 3). Esse processo ocorre na tuba uterina e engloba vários eventos dinâmicos e complexos (MOLÈ, WEBERLING E ZERNICKA-GOETZ, 2020). Seu sucesso requer que o espermatozoide sobreviva ao ambiente hostil do trato reprodutor feminino e encontre o ovócito recém ovulado, resultando em uma única célula totipotente chamada de zigoto, estabelecendo a embriogênese inicial (COWARD E WELLS, 2013; LI E WINUTHAYANON, 2017; MOLÈ; WEBERLING E ZERNICKA-GOETZ, 2020).

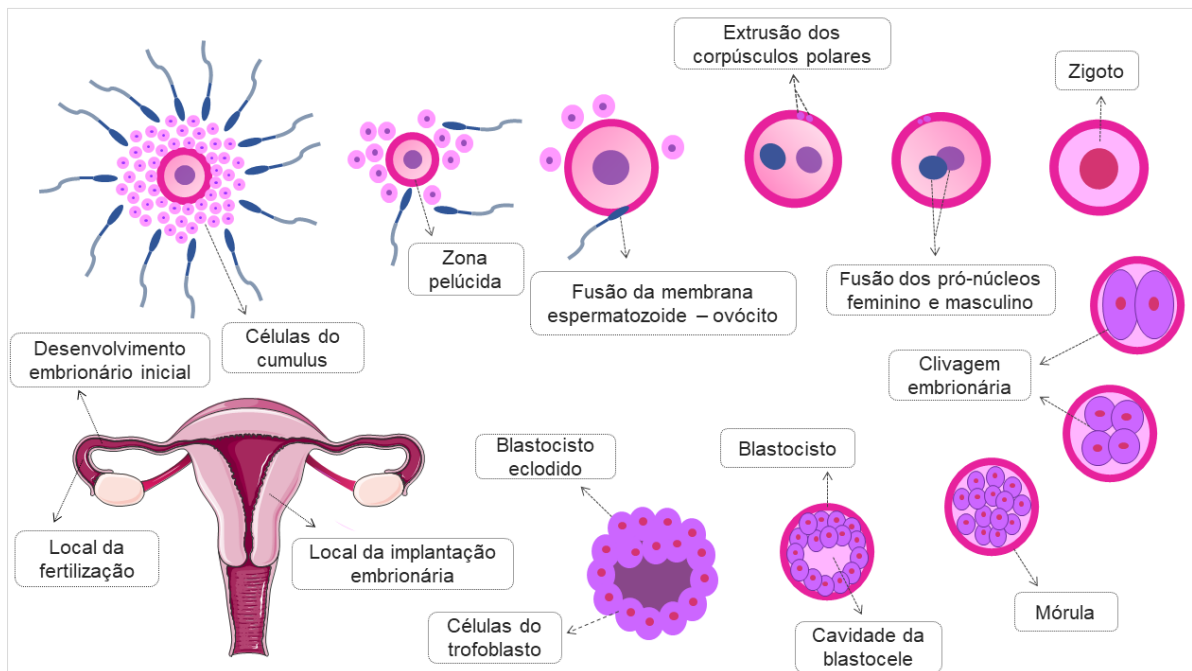


Figura 3- Esquematização do processo de fertilização, iniciando com o encontro do espermatozoide com o ovócito recém ovulado → ligação do espermatozoide com a zona pelúcida e reação acrossômica → fusão da membrana do espermatozoide com a membrana do ovócito → formação dos pró núcleo-feminino e pró-núcleo masculino e extrusão do 2º corpúsculo polar → fusão dos pró-núcleos e singamia gênica → formação do zigoto 46n → embriogênese inicial até o estágio de blastocisto. Baseado em Embriologia Clínica Moore 9ª edição, 2013, p. 31.

Antes de se tornarem aptos à fertilização, os espermatozoides passam por mudanças fisiológicas que ocorrem dentro do trato reprodutor feminino, tais como a

aquisição de motilidade e a capacitação (COWARD; WELLS, 2013). Posteriormente, os espermatozoides penetram nas células do *cumulus-oophorus* dispostas ao redor do ovócito e ligam-se na camada protetora formada durante a ovogênese, chamada de zona pelúcida. Essa ligação induz a reação acrossômica, a qual permite que os espermatozoides degradem a camada de glicoproteínas da zona pelúcida. Após a penetração do espermatozoide na zona pelúcida ocorre a reação zonal, que se caracteriza pela mudança das propriedades da zona pelúcida, com a finalidade de impedir a ligação de outros espermatozoides; essa reação zonal é o resultado da ação de enzimas lisossômicas liberados pelos grânulos corticais próximos a membrana plasmática do ovócito (MOORE, 2008; WAMAITHA; NIAKAN, 2018). Durante o processo de fertilização, após atravessar a zona pelúcida, o espermatozoide se funde com a membrana do ovócito, através da ligação da proteína IZUMO1 presente na sua superfície com sua receptora JUNO na superfície do ovócito (AYDIN et al., 2016)

A fusão da membrana plasmática do ovócito com a membrana plasmática do espermatozoide desencadeia um desbalanço de cálcio, que induz a ativação do ovócito, completando a segunda divisão meiótica, preparando-se para iniciar o desenvolvimento embrionário (STRAUSS E BARBIERI, 2019). Após a extrusão do segundo corpúsculo polar, ocorre uma migração gradual dos pró-núcleos femininos e masculinos para a posição central do ovócito (PAPALE et al., 2012). Quando ocorre o rompimento das membranas dos pró-núcleos, os cromossomos maternos e paternos se unem em singamia e formam o zigoto diplóide (STRAUSS E BARBIERI, 2019).

Após a fertilização, o ovócito tem um papel primordial, provendo o suporte para o desenvolvimento embrionário inicial (Figura 3). Proteínas e RNAm maternos induzem a embriogênese do zigoto até que o genoma embrionário seja ativado e os transcritos da mãe sejam degradados, o que ocorre em média no estágio de embrião de oito células (dia 3). Perdas ou degradação desses fatores maternos ocasionariam no bloqueio do desenvolvimento embrionário (COWARD; WELLS, 2013). Esse período de pré-implantação embrionária ocorre na tuba uterina, a qual provê um microambiente com temperatura constante, pH ótimo e secreção de fluídos que darão assistência ao desenvolvimento embrionário (LI E WINUTHAYANON, 2017).

O zigoto passa por uma sequência de divisões celulares sem crescimento, denominadas clivagens, que resultam na redução do volume celular (COWARD;

WELLS, 2013). As células derivadas dessas divisões são chamadas de blastômeros. Após sucessivas clivagens, os blastômeros iniciam um processo de compactação formando a mórula (COWARD E WELLS, 2013; STRAUSS E BARBIERI, 2019). Nesse estágio os blastômeros secretam moléculas de adesão como a E-caderina, que provêm junções estreitas entre suas membranas, com o intuito de acumular fluídos para a formação da blastocele. Os primeiros sinais de diferenciação celular são estabelecidos e as células da superfície começam a sofrer alterações morfológicas, transformando-se em um epitélio escamoso, que formará o trofotoderma (STRAUSS E BARBIERI, 2019). Nesse estágio de desenvolvimento, o embrião é chamado de blastocisto, e logo se diferencia em trofoblasto e epiblasto. O trofoblasto irá formar os tecidos extraembrionários, como a placenta, e o epiblasto será responsável pela formação dos três folhetos embrionários que darão origem ao indivíduo (COWARD E WELLS, 2013).

O embrião chega ao útero ainda dentro da zona pelúcida, a qual possui função de impedir a implantação do embrião na tuba uterina, o que resultaria em gravidez ectópica. Em torno do quinto dia após a fertilização, no interior do útero, ocorre o rompimento da zona pelúcida, através de digestão enzimática e expansão da blastocele (COWARD E WELLS, 2013). O blastocisto passa a ser coberto com as células responsáveis por formar o sinciciotrofoblasto. Essas células auxiliam a sua implantação através da secreção de metaloproteases e colagenases, com o objetivo de digerir a matriz extracelular do endométrio. Após a implantação, o sinciciotrofoblasto circunda completamente o embrião (COWARD E WELLS, 2013; STRAUSS E BARBIERI, 2019).

Para que a implantação embrionária ocorra com sucesso, o útero precisa se encontrar no período denominado como “janela de implantação”. Nesse período, o útero passa por uma mudança estrutural, mediada pela progesterona e estrogênio, que ocorre em torno de 5 dias após o pico de LH, entre os dias 16 e 22 de um ciclo normal (KIM E KIM, 2017). Várias moléculas de adesão, fatores de crescimento, citocinas e integrinas são expressas no trofotoderma e no endométrio no momento da implantação do embrião. Doze dias após a fertilização o embrião se encontra totalmente incrustado no endométrio decidualizado (STRAUSS E BARBIERI, 2019).

Em contato com o tecido decidualizado do útero, as células embrionárias começam a gerar vilosidades que darão origem à placenta (TURCO E MOFFETT,

2019). A placenta é imprescindível para manter a oxigenação e a nutrição necessárias para o crescimento do embrião, além de ser seu único órgão de ligação com a mãe (KNÖFLER et al., 2019). A invasão do tecido uterino até o miométrio pelas células do sinciciotrofoblasto do embrião e a habilidade de remodelar a vasculatura materna são cruciais para a formação da placenta. A placenta secreta hormônios associados à manutenção da gravidez, como a gonadotrofina coriônica humana (hCG), e serve de proteção contra a rejeição imunológica (HEMBERGER, HANNA E DEAN, 2020).

7. A Infertilidade

A infertilidade tem como sua definição biomédica a inaptidão de estabelecer uma gravidez após um período de 12 meses de tentativas regulares e sem sucesso (LA MARCA E MASTELLARI, 2020). Em aspectos sociológicos, a infertilidade impossibilita a realização de direitos humanos essenciais, tais como o direito de escolha de indivíduos e casais de decidir o número e o período de concepção de seus filhos, condição, que traz como consequência, a degradação da saúde mental e física dos acometidos (WHO, 2020).

Mulheres que experenciam a infertilidade, costumam sofrer com sérias consequências emocionais e psicológicas tais como ansiedade, depressão, isolamento social, sentimento de culpa e inferioridade (KIM, SHIN E YUN, 2018). Em relações conjugais, vivenciar essas emoções negativas pode acarretar na diminuição da satisfação na vida compartilhada, afastamento ou isolamento entre o casal e redução de satisfação sexual em ambos (MALINA E POOLEY, 2017).

Hábitos prejudiciais à saúde e comuns da vida moderna, tais como o abuso de cigarros, de álcool e de outras substâncias químicas, influenciam negativamente a fisiologia reprodutiva, podendo afetar as reservas ovarianas e consequentemente levar ao aumento do tempo para concepção ou à infertilidade (BUDANI E TIBONI, 2017; PATRICK, FAIRLIE E LEE, 2018).

7.1 A infertilidade e o cigarro

O cigarro é até hoje considerado o vilão de um número expressivo de doenças, sendo o cádmio, a nicotina, a cotinina e o benzo(a)pireno (BaP) os principais responsáveis pelos efeitos nocivos (KONSTANTINIDOU, STUPPIA E GATTA, 2020). As evidências acerca do hábito de fumar cigarro e seus danos na saúde reprodutiva crescem cada vez mais. Mulheres constantemente expostas a fumaça de cigarro apresentam alterações na esteroidogênese ovariana, na deleção das reservas ovocitárias, além de prejuízos na função e viabilidade do ovócito e, conseqüentemente, uma menopausa precoce (GANNON; STÄMPFLI; FOSTER, 2012).

Durante a foliculogênese e a ovogênese são observadas alterações morfológicas do CCO causadas pelo cigarro, além da indução de danos no DNA (Figura 4) (BUDANI; TIBONI, 2017; DECHANET et al., 2011).

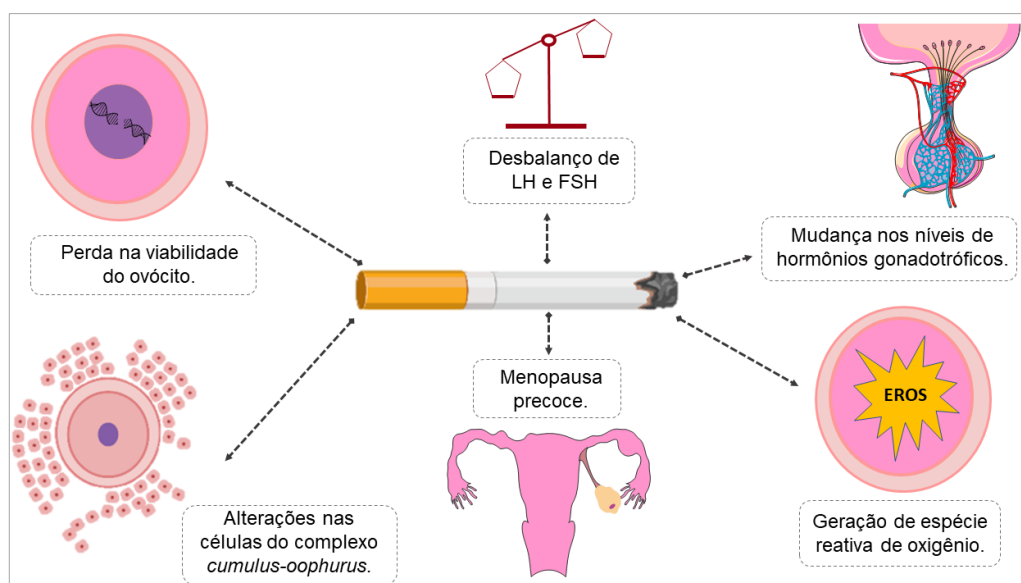


Figura 4- Esquematização dos efeitos tóxicos causados pela exposição de mulheres em idade reprodutiva aos componentes do cigarro. Fonte: O Autor.

O cádmio (Cd), um metal pesado presente no cigarro, pode se acumular nos ovários de fumantes, acarretando severas mudanças morfológicas, interferindo em funções endócrinas e no crescimento folicular. Além dos danos nos ovários, quando esse metal se encontra presente no fluido folicular pode levar a quadros de infertilidade (BUDANI; TIBONI, 2017; XUYING WAN et al., 2010).

Um dos principais danos causados pelo Cd está associado à produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), através da peroxidação lipídica e diminuição dos antioxidantes. Esse processo pode resultar em degradação do DNA ovocitário, apoptose, autofagia dos folículos primordiais e de células da granulosa, e destruição do corpo lúteo (BUDANI E TIBONI, 2017; MASSÁNYI et al., 2020; WAN et al., 2010). Estando também associado com falha na progressão do desenvolvimento ovocitário, aumentando a taxa de ovócitos estacionados no estágio de vesícula germinativa. Com a sua presença no ambiente folicular, as células da granulosa param de secretar hialuronidase, o que danifica a expansão das células do cumulus, resultando em uma menor taxa de ovulação (WAN et al., 2010).

Ovócitos expostos a esse componente, apresentam uma diminuição da presença do receptor JUNO na sua superfície, ocasionando falhas durante a fertilização (CHENG et al., 2019). Tendo sua disposição da actina diminuída, a qual tem um papel fundamental na extrusão do corpúsculo polar, o que pode estar relacionado com falhas decorrentes de anomalias genéticas (CHENG et al., 2019).

Quando outros componentes tóxicos como a nicotina e seu metabólito cotinina são encontrados dentro das células da granulosa dos ovários de mulheres fumantes, a maturação dos ovócitos pode ser afetada (SINKO et al., 2005). Na presença desses tóxicos, são encontrados ovócitos em anáfase prematura e com centrômeros separados de forma incorreta, casos de aneuploidia e aceleração do processo de diminuição das reservas ovarianas (DEMIRHAN et al., 2011; MAROM-HAHAM E SHULMAN, 2016).

Outro componente presente na fumaça do cigarro, o benzo(a)pireno (B(a)P), é metabolizado pelos ovários e transformado em substâncias ovotóxicas, tais como EROS, acarretando danos para a fertilidade feminina (FLOWERS, 2015). Esse químico interage com os receptores de hidrocarboneto arílico, que possuem funções importantes durante a proliferação e diferenciação celular, causando aumento na expressão de proteínas pró-apoptóticas, resultando numa alta taxa de apoptose ovocitária e inibindo o crescimento folicular (RAMESH, HARRIS E ARCHIBONG, 2017; RICHARDSON et al., 2014). O B(a)P também apresenta semelhança com moléculas de esteróides, afetando as concentrações normais de estrógenos, andrógenos e prolactina, causando um desbalanço nos níveis do FSH e do LH, hormônios imprescindíveis para a ocorrência da foliculogênese e da ovulação,

ocasionando um ciclo menstrual irregular (FLOWERS, 2015; RAMESH, HARRIS E ARCHIBONG, 2017).

O consumo de cigarro (ativo ou passivo) durante o início da embriogênese pode gerar inúmeros efeitos negativos, como o aumento do risco de aborto espontâneo, aumento exorbitante de morte celular, baixa qualidade embrionária (DETMAR E JURISICOVA, 2010), placenta com desenvolvimento comprometido (KNOPIK, MACCANI E FRANCAZIO, 2013), receptividade uterina prejudicada (DETMAR E JURISICOVA, 2010) e diminuição das taxas de implantação. Ainda, a passagem da nicotina pela placenta acarretará em má-formações congênitas e o nascimento de crianças abaixo do peso (Figura 5) (KAMSANI, RAJIKIN E CHATTERJEE, 2012).

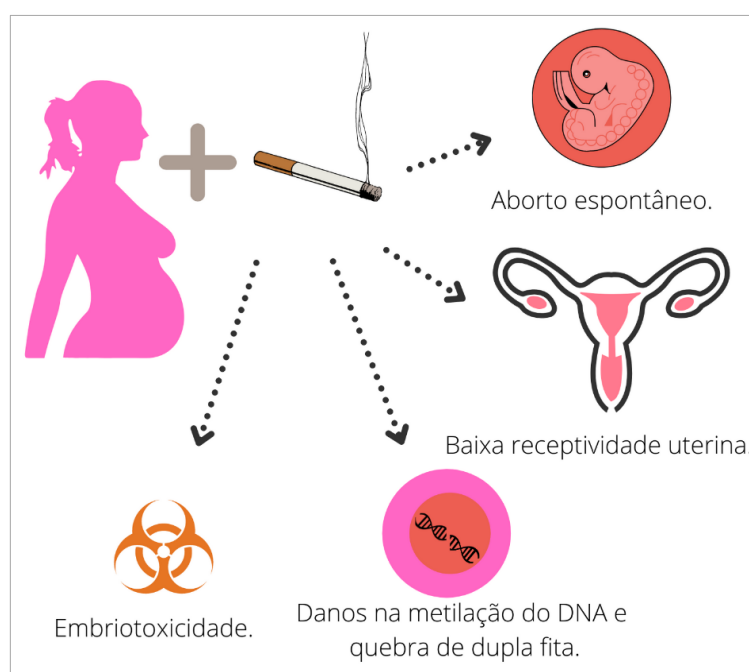


Figura 5- Efeitos negativos causados pelo consumo de cigarro durante a gravidez. Fonte: O Autor.

A exposição ao Cd pode desencadear embriotoxicidade, tendo como consequência a redução da clivagem, comprometimento do desenvolvimento embrionário, danos oxidativos nas mitocôndrias, indução da apoptose e desgastes dos telômeros (HUANG et al., 2010). O B(a)P (benzo(a)pireno) foi encontrado no útero, na placenta, no cordão umbilical e no sangue de mães fumantes (ZHAN et al., 2015). A presença do B(a)P pode ser associada com diminuição na espessura do útero, impedindo a implantação do embrião, e com a redução de vasos sanguíneos, restringindo a taxa de implantação e formação da placenta, além de afetar negativamente a disponibilidade de oxigênio e nutrientes fundamentais para o

desenvolvimento embrionário (MARDANSHAH et al., 2019). Os zigotos expostos ao B(a)P apresentam maior concentração de EROS e os seus metabólitos podem se ligar à dupla fita do DNA, interferindo em sua replicação, causando sérios danos no genoma e atraso no desenvolvimento embrionário (ZHAN et al., 2015).

A presença da nicotina na fumaça do cigarro, dentre outros componentes, causa alteração na proporção de células ciliadas e diminui o fluxo sanguíneo nas tubas uterinas, o que afeta o desenvolvimento embrionário inicial (KAMSANI, RAJIKIN E CHATTERJEE, 2012), ocasionando falhas no transporte do blastocisto, tornando as tubas uterinas um ambiente propício à implantação embrionária, o que culminaria em gravidez ectópica (NIO-KOBAYASHI et al., 2016).

Mesmo que a fertilização seja bem-sucedida em mulheres expostas ao cigarro, o aumento do estresse oxidativo no útero, gerado pela exposição a esses químicos, pode causar fragmentação embrionária e anormalidades congênitas (KAMSANI, RAJIKIN E CHATTERJEE, 2012). Efeitos nocivos na epigenética embrionária também são observados, tais como, danos na metilação do DNA, quebra da dupla fita e aumento intracelular de cálcio, que ativa a proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc, o qual é um fator chave para a transcrição de muitos genes. Essa ativação leva a uma regulação negativa do mRNA DNMT1 e da expressão de proteínas nos neurônios (GUERRERO-PRESTON et al., 2010; LEE E PAUSOVA, 2013). Ainda, a hipóxia pode atuar na supressão da metionina-adenosil transferase, principal enzima envolvida no processo de metilação (LEE E PAUSOVA, 2013). O contato constante com esses tóxicos durante a gravidez causa a regulação negativa de 3 miRNAs: miR-16, miR-21 e miR-146a, no processo de formação da placenta, promovendo a má formação desse órgão (KNOPIK, MACCANI E FRANCAZIO, 2013); induzindo processos inflamatórios que restringem o crescimento embrionário (GUO et al., 2019); acarretando encurtamentos dos telômeros, o que causa instabilidade durante a divisão dos cromossomos e apoptose através de danos mitocondriais (HUANG et al., 2010).

7.2 A infertilidade e o consumo de álcool

Há muitos anos o consumo recreativo do álcool é socialmente aceito. Porém, o seu consumo excessivo e prolongado pode causar danos nos sistemas

neuroendócrino, cardiovascular e imunológico. Além de apresentar um alto risco para manutenção da fertilidade, o alto consumo de álcool pode levar ao desequilíbrio do ciclo menstrual e infertilidade (HENDRIKS, 2020; LI et al., 2013). Um estudo realizado por Richardson et al., (2008) utilizando um modelo animal, concluiu que o consumo excessivo e a dependência ao álcool estão associados com o desbalanço do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), aumentando os níveis de estresse. Esses patamares elevados acabam tendo influência no eixo reprodutivo ou HHG, causando flutuações nos níveis de hormônios esteroides (FINN, 2020).

Altas contrações de álcool estão relacionadas com danos nos neurônios do hipotálamo e ampliação temporária dos níveis de progesterona, que atua diminuindo a liberação de GnRH (retroalimentação negativa), causando oscilações nos níveis de LH e FSH (EMANUELE E EMANUELE, 2002; XU et al., 2017). Consumo prologado de álcool leva ao um aumento dos níveis de FSH circulantes, induzindo a redução dos números de folículos antrais. Levando também a diminuição prematura das reservas ovarianas (LI et al., 2013).

O etanol tem efeitos prejudiciais aos ovários através da indução do aumento na síntese da enzima óxido nítrico sintase e de um aumento na atividade do óxido nítrico, que atua como supressor da produção dos hormônios esteroides, diminuindo seus níveis circulantes e causando um efeito negativo na função ovariana, diminuindo o volume ovariano e provocando um aumento das anormalidades menstruais como oligomenorreia, polimenorreia e hipomenorreia (LI et al., 2013; RACHDAOUI E SARKAR, 2013). Também podem ocorrer efeitos deletérios nos folículos secundários e antrais, tais como atresia avançada nas células da granulosa (CHUFFA, PADOVANI E MARTINEZ, 2009), e na integridade dos ovócitos através da desregulação do epigenoma e transcriptoma, gerando danos de codificações epigenéticas de mensagens hereditárias, aumentando casos de ativação partenogenética (ativação ovocitária na ausência de fertilização), tornando-se assim ovócitos inviáveis. Também são relatadas falhas do *imprinting* do RNA (nc886) que está incluído em uma região diferenciada metilada, podendo resultar em falha no desenvolvimento embrionário (CARPENTER et al., 2021; KALISCH-SMITH E MORITZ, 2018; ZEID E GOULD, 2020).

A ingestão materna de álcool pode afetar a fertilização e a pré-implantação embrionária, diminuindo as taxas de eclosão de blastocisto e resultando em embriões

com morfologia anormal (GUERRI E PASCUAL, 2017). Também pode haver maior risco de aborto espontâneo, em consequência ao aumento do estresse oxidativo, o que pode causar a ruptura das vias bioquímicas envolvidas nos processos de embriogênese e impedir a síntese de ácido retinóico, afetando a programação epigenética das linhagens celulares (SUNDERMANN et al., 2021). Sintomas derivados da síndrome do alcoolismo fetal (SAF) podem ocorrer devido a desbalanceamentos na fisiologia materna, empobrecendo a receptividade uterina (SUNDERMANN et al., 2021), o que resulta em nascimentos pré-maturos, retardos de crescimento e malformações congênitas (PEREZ-TITO, BEVILACQUA E CEBRAL, 2014).

A exposição ao etanol durante um período anterior à gestação e até 10 dias depois da fertilização, pode acarretar em redução da viabilidade embrionária, atraso na diferenciação celular e no desenvolvimento do embrião (PEREZ-TITO, BEVILACQUA E CEBRAL, 2014). São descritas também alterações na via prostaglandina-óxido nítrico e falhas na adesão celular, como a desregulação da expressão de proteínas de junções aderentes nos embriões (COLL et al., 2017). Segundo Zhang et al., (2018) o cultivo *in vitro* de embriões de camundongos, em meio suplementado com 0,5% de etanol foi capaz de bloquear o desenvolvimento embrionário no estágio de 4 células. Ainda, o aumento da concentração para 2,5% resultou em redução na formação de blastocistos.

Mulheres que consomem 29,6ml de álcool duas vezes por semana, apresentam o dobro de taxa de aborto quando comparadas aquelas que não ingerem álcool (GUERRI E PASCUAL, 2017). Essa substância pode atravessar a tuba uterina e afetar diretamente a embriogênese inicial (KALISCH-SMITH E MORITZ, 2018) ou impedir o transporte dos embriões para o útero, uma vez que as ondas de contração e relaxamento muscular da tuba uterina são afetadas pela via do óxido nítrico e também podem causar a destruição do epitélio ciliado (XU et al., 2017). O útero também sofre algumas consequências dessa exposição excessiva, tais como atrofia dos cornos uterinos, redução na espessura do endométrio e alterações morfológicas do epitélio, que passa a apresentar áreas menores, e das células glandulares causando alterações nas secreções e na receptividade uterina (KALISCH-SMITH E MORITZ, 2018; MARTINEZ et al., 2016).

O desenvolvimento da placenta é um processo de suma importância para o correto desenvolvimento embrionário/fetal, sendo sensível à ação do álcool (BOSCO E DIAZ, 2012), que pode causar remodelação das artérias responsáveis por fornecer sangue para a placenta e nutrientes para o embrião (KALISCH-SMITH E MORITZ, 2018). O crescimento e a adesão das células do trofoblasto tem um papel fundamental no processo de formação da placenta. Porém, na presença do álcool, as taxas de invasão dessas células são reduzidas, causando falhas na implantação (GUNDOGAN et al., 2015). Ainda, o aumento de estresse oxidativo pode resultar em apoptose e necrose na placenta, culminando em uma placenta com baixo peso ou perda da gravidez (BOSCO E DIAZ, 2012).

7.3 A infertilidade e a alimentação

A alimentação desbalanceada decorrente da vida moderna, da qual derivam o sobrepeso e a obesidade ou, em contrapartida, o sub peso, que muitas vezes está ligado com distúrbios alimentares como a anorexia nervosa e a bulimia nervosa, são prejudiciais ao ciclo reprodutivo da mulher. Processos reprodutivos, incluindo a puberdade e a ovulação, dependem das reservas energéticas (GIVIZIEZ et al., 2016). O peso e a má distribuição da massa corporal podem causar um rompimento do balanço fisiológico entre o metabolismo e a reprodução, acarretando impactos negativos no eixo HHG, levando a ciclos menstruais disfuncionais, problemas ovulatórios e variação na fertilidade (FONTANA E TORRE, 2016; GIVIZIEZ et al., 2016).

O excesso de peso e a obesidade, caracterizados por um índice de massa corporal (IMC) maior que 25 kg/m² e 30kg/m² respectivamente, consistem no acúmulo excessivo de tecido adiposo, que, por sua vez, libera uma série de moléculas bioativas chamadas de adipocinas. Concentrações exacerbadas dessas moléculas no sangue possuem relação com condições como a resistência à insulina e a diabetes tipo 2, corroborando com quadros de hiperinsulinemia (SILVESTRIS, 2018). A insulina demonstrou ter efeitos dose dependente na esteroidogênese ovariana e na proliferação celular. Em situações de hiperinsulinemia, a síntese de andrógenos ovarianos, estimulada por gonadotrofinas, é potencializada, inibindo a ovulação

normal (FONTANA E TORRE, 2016). Porém, os impactos da obesidade não estão apenas relacionados ao prejuízo no eixo HHG, mas também na qualidade do ovócito e na receptividade uterina (FONTANA E TORRE, 2016).

O aumento da concentração de leptina, proteína secretada por adipócitos, inibe a foliculogênese, sendo associada com a redução no número de folículos maduros (PANTASRI; NORMAN, 2013). Na presença desta proteína, o microambiente folicular se torna alterado, passando a apresentar altos níveis de insulina, triacilglicerídeos e marcadores inflamatórios (BROUGHTON; MOLEY, 2017). O aumento na concentração de ácidos graxos no fluído folicular desencadeia a lipotoxicidade, que pode resultar em morfologia anormal do complexo *cumulus-oophorus* e aumento da apoptose dessas células (prejudicando a maturação nuclear de ovócitos), altas taxas de meiose com aneuploidias, fuso mitóticos fragmentados e cromossomos desalinhados na placa metafásica. Também podem ocorrer aumento na produção EROS e diminuição nos níveis de glutathione, que é um importante mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo (BROUGHTON E MOLEY, 2017; JUNGHEIM, TRAVIESO E HOPEMAN, 2013; PANTASRI E NORMAN, 2014).

Em oposição à obesidade, o sub peso, caracterizado pela drástica redução do peso e do tecido adiposo, pode atenuar a liberação de gonadotrofinas e a estimulação ovariana. Essa privação calórica pode causar a deficiência de leptina e a diminuição dos picos de LH, afetando a fertilidade feminina (BOUTARI et al., 2020). Conseqüentemente, o sub peso pode resultar em múltiplos distúrbios menstruais, como amenorreia anovulatória, menstruação encurtada ou prolongada devido às irregularidades nas fases folicular, luteal ou pré-menstrual e oligomenorreia (POTERASU et al., 2020).

Mulheres acima ou abaixo do peso também sofrem influências negativas durante o período de desenvolvimento embrionário e implantação (LI, YANG E ZHANG, 2010). Influências provavelmente relacionadas com as múltiplas alterações endócrinas e metabólicas. Essas mudanças podem modificar a secreção e atuação da insulina, leptina, adipocinectina, dentre outros hormônios, além de causar a instabilidade genômica e uma reconstituição ineficiente dos telômeros durante as primeiras clivagens embrionárias (BARTOLACCI et al., 2019; LI, YANG E ZHANG, 2010).

O microambiente uterino com excesso de adiposidade em mulheres acima do peso pode propiciar complicações durante a implantação, aumentando a taxa de abortos (KUDESIA et al., 2018). As condições de hiperinsulinemia estão ligadas a perturbações do endométrio, levando a redução dos níveis de glicodelina, que podem levar a casos de perda da gravidez; e do fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1, o qual causa deficiência da adesão das células responsáveis pela interface materno-fetal (FARHI et al., 2010). A obesidade pode impactar a qualidade dos ovócitos impedindo a meiose, e os embriões derivados desses ovócitos possuem uma qualidade inferior e altas taxas de aneuploidias (BROUGHTON E JUNGHEIM, 2015; LEE, BERNARDI E BOOTS, 2020). As disfunções metabólicas presentes no soro materno podem causar alterações no lúmen uterino. O embrião sensível a essas alterações, pode remodelar suas vias metabólicas frente a esse microambiente. Esse remodelamento altera o desenvolvimento do blastocisto, principalmente nas células da linhagem extraembrionárias (FLEMING, VELAZQUEZ E ECKERT, 2015).

Esse fenótipo metabólico perturbado, torna o desenvolvimento embrionário mais acelerado. Sucedendo-se em blastocistos com um menor número de células do trofoblasto e em um déficit na implantação embrionária. No entanto, os mecanismos responsáveis por essa aceleração são ainda desconhecidos (LEARY, LEESE E STURMEY, 2015). Esse ambiente lipotóxico causado pelo excesso de adiposidade, também aumenta os níveis de estresse oxidativo, tornando o ambiente materno prejudicial para a formação da placenta, fundamental para o crescimento correto do embrião implantado (MANDÒ et al., 2018).

Em mulheres com condições de subnutrição e baixo peso, o embrião pode sofrer efeitos nocivos durante as clivagens e na formação do blastocisto. Dentre os possíveis efeitos dessa condição estão o aumento do risco de perda de gravidez, parto prematuro, anemia, infecções e restrição de crescimento fetal. (TRIUNFO E LANZONE, 2015; VELAZQUEZ, 2015). Os níveis de leptina são diminuídos nessas mulheres, o que altera a receptividade uterina e a implantação embrionária (BARTOLACCI et al., 2019). A privação de alimentação materna, culmina em placentas com baixo peso, causando disrupção no metabolismo dos lipídeos, afetando o fluxo de aminoácidos e ácidos graxos. Isso leva a um suprimento inadequado de nutrientes e aminoácidos essenciais, o que contribui para a restrição do crescimento fetal e o aborto espontâneo (TRIUNFO E LANZONE, 2015).

7.4 A infertilidade e o estresse

Experiências emocionais negativas são responsáveis por desencadear um estado de desarmonia no organismo, tendo um efeito significativo na homeostase, uma vez que as condições fisiológicas normais estarão constantemente desafiadas por estressores internos ou externos, o que leva à condições de estresse psicológico (VALSAMAKIS, CHROUSOS E MASTORAKOS, 2019). Aproximadamente 20-25% dos pacientes que experienciam severas condições de estresse psicológico acabam desenvolvendo depressão (ZHAI et al., 2020). Elevados níveis de estresse acarretam prejuízos no sistema reprodutor feminino, impactando na função do corpo-lúteo, competência do ovócito e nas taxas de gravidez (GAO et al., 2016).

Condições de estresse agudo atuam no eixo HHG inibindo a secreção de GnRH, que tem como consequência a inibição das ondas de LH e FSH produzidas pela hipófise, o que resulta em níveis de hormônios circulantes insuficientes para manter a função folicular e ovulatória (CIECHANOWSKA et al., 2016; VALSAMAKIS, CHROUSOS E MASTORAKOS, 2019). Em resposta ao estímulo estressor, ocorre a ativação do eixo HHA que induz a produção dos hormônios liberador de corticotrofina (CRH) e arginina vasopressina, que estimulam a hipófise a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). A resposta a esse hormônio induz à secreção de glicocorticoides (cortisol), mineralocorticoides (aldosterona) e andrógenos adrenais (Figura 6) (JOSEPH E WHIRLEDGE, 2017).

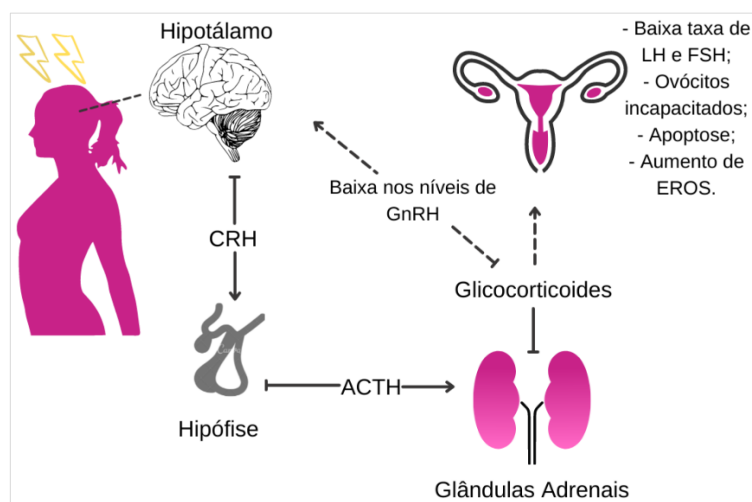


Figura 6- Representação da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais. Glicocorticoides como o cortisol são liberados na circulação sanguínea. As linhas descontínuas indicam os seus efeitos sobre os ovários e sobre o hipotálamo. Baseado em Joseph e Whirledge, 2017.

A exposição das fases de crescimento folicular e maturação ovocitária às mudanças fisiológicas resultantes do estresse psicológico ocasionam alterações na competência reprodutiva. Os ovócitos passam a apresentar meiose atrasada com fuso da metáfase II anormal, aneuploidias mais frequentes e alterações no fluido folicular. O microambiente folicular torna-se pobre, o que afeta a habilidade de fertilização do ovócito (JOSEPH E WHIRLEDGE, 2017; ZHAI et al., 2020). O aumento dos níveis de glicocorticoides, como o cortisol, podem ter efeitos diretos sobre os ovários. Estes efeitos prejudicam a produção de testosterona, induzindo apoptose nas células ovarianas, diminuindo os níveis dos fatores de crescimento, de progesterona e de estrogênio, podendo levar a quadros de anovulação (VALSAMAKIS, CHROUSOS E MASTORAKOS, 2019; ZHAI et al., 2020).

A produção excessiva de EROS é outra consequência desencadeada por esse desbalanço homeostático. Essas moléculas podem se difundir pelas membranas celulares dos ovários e diminuir a concentração das enzimas antioxidantes, responsáveis por inibir as alterações mitocondriais, deleção de ATP, fragmentação do DNA e de núcleos, apoptose e necrose das células granulosas do ovário e ovócitos. Como consequência, pode ocorrer um aumento nas alterações epigenéticas que afetam a qualidade dos ovócitos e embriões e no número de folículos em atresia (ZHAI et al., 2020).

É comum que as mulheres experienciem quadros de depressão, ansiedade e estresse ao longo de sua gravidez (STANEVA et al., 2015). Casos de depressão provocam atraso no crescimento embrionário-fetal, tendo como consequência períodos de gestações mais curtos e nascidos com baixo peso (FIELD, 2011). O estresse materno, principalmente durante o período de pré-implantação embrionária, enquanto o embrião ainda se encontra no oviduto, pode ser vinculado com infertilidade e falhas na reprodução (DU et al., 2020). Uma vez que, excedentes de cortisol propiciam retardo na regeneração endometrial durante a implantação, induzem apoptose por vias de estresse oxidativo, e o desenvolvimento anômalo das glândulas, do estroma e da vasculatura do endométrio (LIU et al., 2015).

Uma longa exposição a níveis altos de cortisol pode levar a modificações de funções básicas do oviduto, tais como, a mudança na expressão da principal glicoproteína não sérica encontrada nesse local, a OVGP1, responsável por desempenhar funções determinantes na capacitação dos espermatozoides, ligação

do mesmo com a zona pelúcida, fertilização e clivagem embrionária inicial (ALGARRA et al., 2016; DU et al., 2020). Além dessa alteração, estudos que utilizaram ratas prenhas como modelo animal demonstraram um decréscimo na qualidade embrionária (DU et al., 2020). Outro estudo constatou que um microambiente materno exposto ao estresse, tem diminuição significativa na média do número de células do trofoblasto e da massa celular interna dos blastocistos (BURKUŠ et al., 2015). O excesso de cortisol pode também atravessar a placenta e provocar alterações permanentes no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal do feto (RAKERS et al., 2020).

De acordo com Zheng et al., (2016) em seu estudo, o estresse intensifica a apoptose nas células do oviduto e embrionárias através da ativação do sistema FAS (também é chamado de Apo-1 ou CD95), um domínio de morte que contém um membro da superfamília do receptor do fator de necrose tumoral (TNFR). Sua principal função é a regulação fisiológica da morte celular programada (WAJANT, 2002; ZHENG et al., 2016). Os fatores psicológicos são grandes vilões durante a gravidez, podendo aumentar em 42% o risco de aborto. O estresse psicológico causa a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, resultando na secreção adrenal de cortisol. Esse hormônio atua diretamente no metabolismo da placenta, diminuindo a síntese de progesterona, essencial para manutenção da gravidez (QU et al., 2017).

Mas apesar de existirem inúmeros fatores prejudiciais à saúde reprodutiva feminina, que levam a casos de infertilidade, essa condição muitas vezes é temporária. As primeiras alternativas devem tentar a mudança de hábitos. Parar de consumir substâncias como o álcool e o cigarro trazem inúmeros benefícios para a saúde, e pode levar ao retorno da correta fisiologia reprodutiva. Uma alimentação balanceada é imprescindível para manutenção ideal das reservas energéticas, que contribuem positivamente para o equilíbrio do metabolismo e dos ciclos reprodutivos. Em casos de sobre peso e obesidade ou sub peso, a abordagem das mulheres que buscam engravidar deve iniciar-se com uma reeducação alimentar afim de adequar o seu peso corporal.

Quando essa infertilidade é resultado de problemas psicológicos como o estresse, a ansiedade e a depressão, os meios para redução desses agentes causadores de danos são através da busca de auxílio psicológicos com profissionais. Também é importante buscar formas de diminuir a carga de estresse proveniente do cotidiano, diminuindo sua carga de trabalho e responsabilidades. Iniciar práticas de

exercício físico pode levar a uma melhora significativa de qualidade de vida, sendo uma opção bastante simples e compensatória.

No entanto, quando essas mulheres não apresentam uma reversão das condições de infertilidade, os avanços da medicina e biotecnologia dispõem de biotécnicas que auxiliam na concepção dessas mulheres. O próximo capítulo abordará um pouco sobre o funcionamento dessas técnicas de reprodução assistida.

8. Técnicas de Reprodução Assistida

A reprodução assistida engloba tratamentos e técnicas que buscam aumentar a probabilidade de alcançar a gravidez, através da manipulação de ovócitos, espermatozoides e embriões. A essência dessa tecnologia consiste na fertilização *in vitro* e na transferência de embriões, na qual os ovócitos são fertilizados em um ambiente laboratorial e o embrião formado é transferido para dentro do trato reprodutor feminino a fim de seguir o curso normal da gravidez (HUANG E ROSENWAKS, 2014; STRAUSS E BARBIERI, 2019).

O conhecimento sobre a reprodução assistida se iniciou com estudos envolvendo experimentos de embriologia animal. O primeiro caso de sucesso na espécie humana ocorreu em 1968 quando os pesquisadores Edwards e Bavters colocaram espermatozoides e ovócitos humanos em um meio de fertilização *in vitro* (FIV) adaptado de hamster. Onze horas depois foi observada a presença da cauda de espermatozoide dentro de um ovócito e a formação de pró-núcleos em outro, sendo essa uma clara evidência da fertilização humana (COWARD E WELLS, 2013). As evidências do primeiro sucesso de reprodução assistida humana datam de 1978 com o nascimento de Louise Brown, resultado de FIV de um único ovócito pré-ovulatório obtido de um ciclo menstrual natural (STRAUSS E BARBIERI, 2019). Desde esse relato, o campo das tecnologias de reprodução assistida vem se aprimorando e inovando cada vez mais, resultando milhões de nascidos provenientes de tais técnicas (HUANG E ROSENWAKS, 2014).

8.1 Fertilização *in vitro* clássica

A fertilização *in vitro* (FIV) é a técnica de reprodução assistida mais simples sendo recomendada para muitos tipos de infertilidade, tais como endometrioses, doenças nas tubas uterinas, síndrome dos ovários policísticos dentre outras. No entanto, alguns casais apresentam severos fatores biológicos, tais como casos masculinos de azoospermia que impedem o sucesso da FIV. Fez-se então necessário o desenvolvimento de outras técnicas de FIV, tais como a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). A modernização das técnicas de reprodução assistida revolucionou o campo da medicina frente ao tratamento da infertilidade (COWARD E WELLS, 2013; FRITZ E SPEROFF, 2011).

Para realização da FIV são necessários alguns passos, que devem ser altamente coordenados para garantia do sucesso (FRITZ E SPEROFF, 2011). Esse procedimento inicia-se normalmente com o controle do crescimento folicular, onde comumente se utilizam protocolos com análogos de GnRH a fim de suprimir a liberação de FSH e LH pela hipófise, em conjunto com as gonadotrofinas. O crescimento folicular nos ovários é monitorado por ultrassonografia e uma injeção de hCG é realizada para incitar a maturação final do ovócito (DEMIROL E GUVEN, 2016; ELDER E DALE, 2019; JOHNSON, 2018). Os protocolos de controle de crescimento folicular e estimulação ovariana podem variar entre si e cabe a equipe médica indicar o mais adequado a suas pacientes. Esses protocolos tem como finalidade a maturação de um número maior de folículos ovarianos, o que difere do ciclo natural e aumenta as chances de sucesso.

O passo que sucede a estimulação ovariana consiste na recuperação de ovócitos intrafoliculares (Figura 7) com o auxílio de uma agulha acoplada à um transdutor de ultrassom transvaginal. A agulha é inserida nos folículos, com o intuito de coletar o complexo *cumulus oophorus* através de aspiração. Normalmente, todos os folículos com diâmetro maior que 10 mm são aspirados. Esse procedimento ocorre cerca de 34 a 36 horas depois da injeção de hCG, com a paciente sedada para evitar desconfortos (FRITZ; SPEROFF, 2011; JOHNSON, 2018). Subsequente à punção ovariana, é realizada a busca dos complexos *cumulus oophorus*. Após, é feita a avaliação do estágio de maturação ovocitária, da quantidade e dos aspectos das células do *cumulus oophorus* e da granulosa e a presença de um corpúsculo polar,

que indica que o ovócito se encontra em metáfase II, pronto para fertilização (BRINSDEN E BOURN HALL CLINIC, 2005). Em geral os ovócitos são avaliados através da sua morfologia, são avaliados os dismorfismos intracitoplasmáticos como as granulações e inclusões e os dismorfismos como a zona pelúcida, espaço perivitelíneo, corpúsculo polar e forma. E a maioria dos ovócitos recuperados apresentam uma ou mais variações, que podem ser resultados de fatores intrínsecos das pacientes (FIGUEIRA, AOKI E BORGES JUNIOR, 2015).

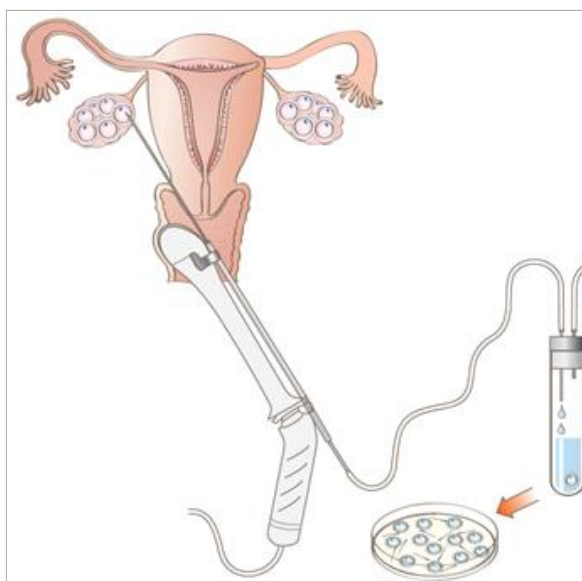


Figura 7- Processo de recuperação de ovócitos intrafoliculares guiada por ultrassom. Fonte: Essential Reproduction, Martin H. Johnson. Eight Edition, 2018, p.371.

Os ovócitos são inseminados entre duas e seis horas depois da coleta e o sêmen pode ser preparado nesse período. Para o procedimento de FIV são preconizados que os espermatozoides apresentem características tais como: morfologia normal; acrossomo intacto; velocidade em linha reta e linearidade; (GARDNER et al., 2018). Após a coleta, normalmente realizada através da masturbação usando materiais estéreis, os espermatozoides devem ser processados o mais rápido possível, pois o fluido seminal concentra vários fatores que podem limitar a capacitação espermática (COWARD E WELLS, 2013).

Existem três técnicas de preparação dos espermatozoides para a técnica de FIV (Figura 8): lavagem simples; *swim up*; e gradientes de densidade descontínuos. A lavagem simples consiste na diluição do sêmen em meio de cultura e sua centrifugação para o isolamento dos espermatozoides, sendo o sobrenadante removido e o precipitado resultante suspenso em meio de cultura (BORMANN et al.,

2010). A técnica de *swim up* avalia a capacidade dos espermatozoides de nadar do plasma seminal para as camadas do meio de cultivo. Antes deste teste, é preferível que o sêmen não seja centrifugado. Os gradientes de densidade descontínua consistem na centrifugação do plasma seminal sobre gradiente de densidade de sílica coloidal revestidos com silano. Devido à diferença de densidade, é feita uma separação das células (WHO, 2018).

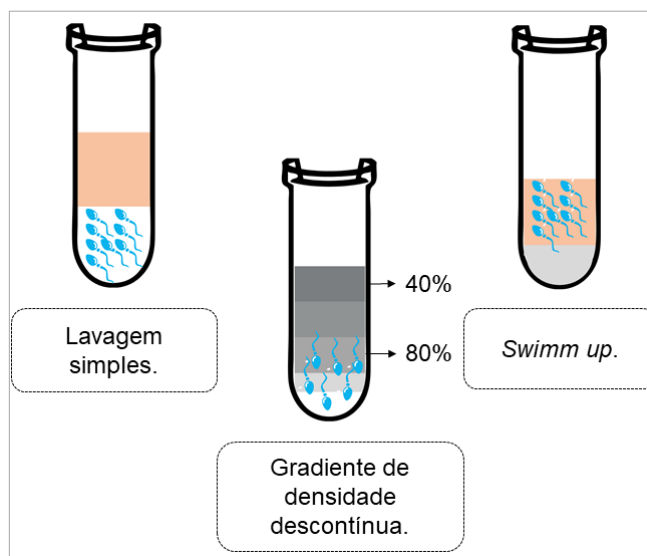


Figura 8- Métodos de preparo de sêmen para fertilização in vitro. Baseado em Textbook of Clinical Embriology 2013, p. 246-247.

Após o preparo dos espermatozoides, os ovócitos em metáfase II são incubados com uma concentração de 1 milhão de células/ml de espermatozoides móveis em gotas de meio FIV encobertas por óleo mineral, nas condições ideais de temperatura (37°C), 5% de dióxido de carbono e 98% de umidade relativa do ar, por um período de 12 a 18 horas (Figura 9). A penetração do espermatozoide no ovócito desencadeia a reação cortical, a qual envolve a exocitose dos grânulos corticais e o endurecimento da zona pelúcida que impede a poliespermia. A FIV normalmente apresenta uma taxa de sucesso entre 50% e 70% (FRITZ E SPEROFF, 2011).

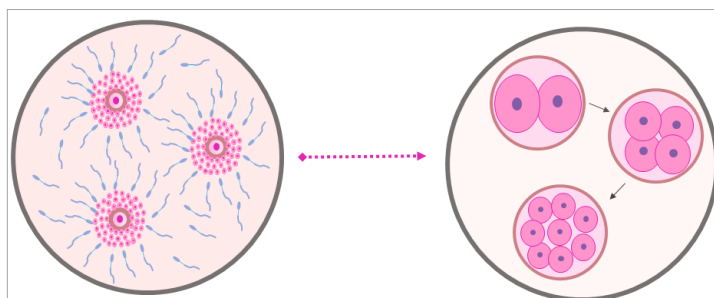


Figura 9- Representação da incubação dos ovócitos recuperados com espermatozoides no processo de fertilização in vitro (FIV). Fonte: O autor.

8.2 Injeção intracitoplasmática de espermatozoide

A injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) consiste na inserção de um único espermatozoide no citoplasma do ovócito, sendo indicada para casos de infertilidade masculina (O'NEILL et al., 2018) mas também para casos de infertilidade feminina como endometrioses e desordens síndrome dos ovários poliscísticos, sendo atualmente muito utilizada. O processo de obtenção do ovócito é idêntico aos protocolos realizados na FIV convencional. No entanto, é necessária a retirada das células do *cumulus oophorus* antes da fertilização (Figura 10), para avaliar a maturação e também pelo fato destas células causarem o bloqueio da agulha de injeção (FRITZ E SPEROFF, 2011; GARDNER et al., 2018). As células da *corona radiata* e do *cumulus oophorus* dos ovócitos morfologicamente normais são removidas através de processo mecânico. Esses ovócitos desnudos são incubados em meio de cultivo até o momento da microinjeção (PATRAT et al., 2012; STRAUSS E BARBIERI, 2019).

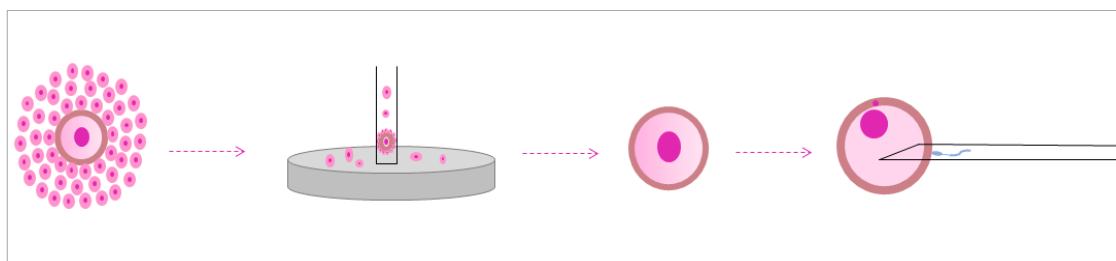


Figura 10- Processo de retirada das células do cumulus e da corona radiata dos ovócitos antes da ICSI. Baseado em: Yen e Jeffe's, Reproductive Endocrinology, Eight Edition 2019, p. 827.

A seleção do espermatozoide para injeção no ovócito deve priorizar o potencial de fertilização. Assim, aqueles com morfologia anormal e inviáveis devem ser descartados (GARDNER et al., 2018). Após a seleção do espermatozoide, é feito o processo de imobilização, indispensável para a técnica de ICSI. Com uma pipeta, um único espermatozoide é imobilizado através de uma rápida encostada da pipeta na cauda contra o fundo da placa e aspirado pela cauda. No momento da injeção, o ovócito é mantido preso, seu plano equatorial é localizado e a pipeta contendo o espermatozoide é injetada no oolema. Para a ativação do ovócito, é aspirando um adicional de ooplasma, para frente e para trás (figura 11). O tempo médio de duração para a injeção de um ovócito é de 30 a 40 segundos (PALERMO et al., 2019). Por volta de 12 a 17 horas depois do procedimento são avaliados a integridade do citoplasma, o número e tamanho dos pró-núcleos dos ovócitos para confirmar a fertilização (GARDNER et al., 2018).

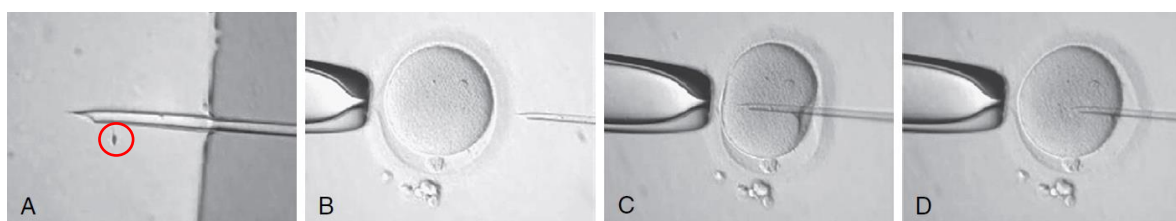


Figura 11- Processo de Injeção intracitoplasmática de espermatozoide: (A) O espermatozoide é imobilizado dentro da pipeta; (B) O ovócito é posicionado para receber a injeção; (C) O espermatozoide é inserido dentro do ooplasma; (D) A pipeta é então retirada e o espermatozoide permanece no oolema. Fonte: Yen e Jeffe's, Reproductive Endocrinology, Eight Edition 2019, p. 834.

8.3 Cultivo embrionário

O sucesso da fertilização é indicado pela presença de dois pró-núcleos e dois corpúsculos polares (ELDER E DALE, 2019). A seleção embrionária após a fertilização, independentemente do método de união dos gametas (FIV ou ICSI), é feita através de observação do estágio pronuclear, baseada na polaridade dos nucléolos dentro dos dois pro-núcleos (GARDNER, RIZK E FALCONE, 2011). O cultivo embrionário é uma prática complexa. Fatores como microambiente, qualidade do ar do laboratório, temperatura, meios de cultivo, pH, iluminação, entre outros, precisam estar em harmonia para prover as condições necessárias para o desenvolvimento do embrião (Figura 12) (COWARD E WELLS, 2013). A temperatura

normalmente utilizada para esse tipo de cultivo é de 37°C (STRAUSS E BARBIERI, 2019). Para selecionar os embriões no estágio de mais células, são observadas as regularidades dos blastômeros, as variações de espessura da zona pelúcida, a presença de fragmentos, além da possibilidade de triagem genética pré-implantacional.

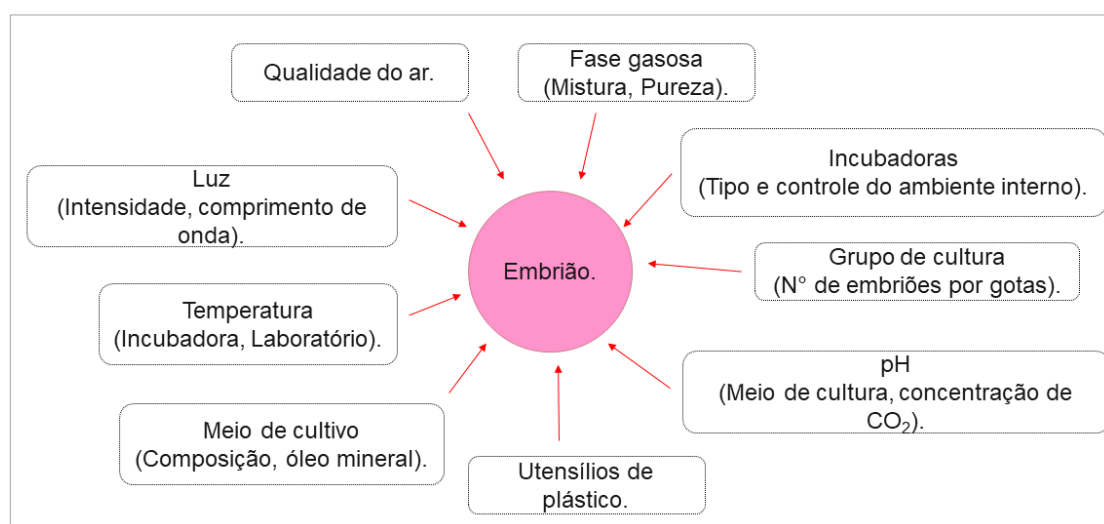


Figura 12- Fatores que devem estar em harmonia durante o cultivo embrionário. Adaptado de Textbook of Clinical Embriology 2013, p. 276.

8.4 Transferência embrionária

A transferência de embriões representada na figura 13, é uma etapa crucial para a obtenção do sucesso das técnicas de reprodução assistida (RUSSELL E CHONG, 2020). Ainda não existe um consenso na literatura sobre o estágio de desenvolvimento mais apropriado para a transferência (clivagem aos 2-3 dias ou blastocisto aos 5-6 dias). No entanto, a transferência no estágio de blastocisto apresenta diversas vantagens, por promover uma sincronização temporal entre o embrião e o útero no momento da transferência, proporcionando uma seleção mais apurada de embriões competentes e a transferência de embriões com maior qualidade, reduzindo o risco para múltiplas gestações (STRAUSS E BARBIERI, 2019).

Existe mais de um tipo de cateter usado para a transferência embrionária. No entanto, cateteres macios são associados com maiores taxas de sucesso. A transferência deve ser guiada por ultrassom, para certificação de que o embrião seja

depositado no meio do útero e cerca de 2 cm de distância do fundo uterino (GARDNER, RIZK E FALCONE, 2011).

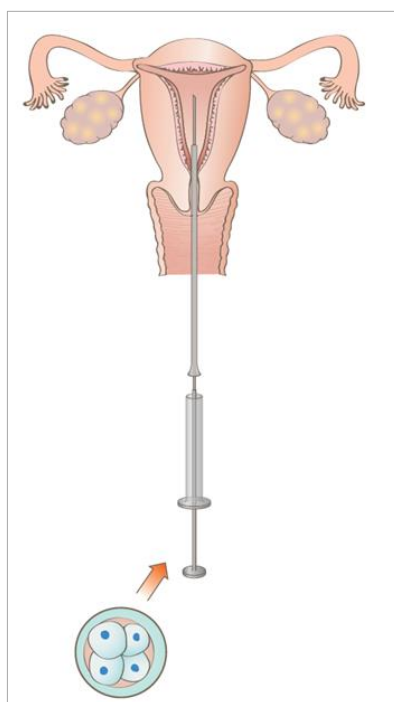


Figura 13- Processo de transferência embrionária. Fonte: Essential Reproduction, Martin H. Johnson. Eight Edition, 2018, p.371.

Antes da transferência, é inserido um espéculo para possibilitar a visão do colo do útero. O espéculo deve ser higienizado com meio de cultivo e o excesso de muco deve ser retirado. O cateter é preenchido com 30 μ l de meio e com o embrião, em uma sala isolada, cerca de 10 segundos antes da transferência. As bolhas de ar ajudam a visualizar o posicionamento adequado. Os embriões devem ser injetados gentilmente e o cateter retirado lentamente, sempre com o êmbolo pressionado, para que o fluido não siga o cateter de volta. Após ser retirado, o cateter é inspecionado para verificar a ausência do embrião, de sangue, muco ou tecido endometrial (SCHOOLCRAFT, 2016).

O desenvolvimento endometrial adequado é importante para o sucesso da gravidez. Em ciclos ovulatórios naturais esse desenvolvimento é provido por exposições a estrogênio e progesterona. Em conjunto, esses hormônios são responsáveis pelo desenvolvimento do folículo antes da ovulação e pelo corpo lúteo depois da ovulação. Os ciclos de estimulação ovariana são diferentes, e causam um desbalanço fisiológico após a aspiração do folículo, acarretando em disfunção e encurtamento da fase lútea (YANUSHPOLSKY, 2015). Para o suporte da fase lútea

foram testados vários tratamentos, com progesterona, hCG e agonistas de GnRH (MESEN E YOUNG, 2015). O protocolo com administração de progesterona por via vaginal ou intramuscular é o mais utilizado (LAWRENZ, COUGHLAN E FATEMI, 2019).

8.5 Criopreservação de gametas e embriões

As técnicas de criopreservação consistem em conservar tecidos por períodos extensos em temperaturas baixas. No caso de congelamento e conservação em nitrogênio líquido (-196°C), é necessário o uso de aditivos crioprotetores, para reduzir danos causados pela formação de gelo. Os crioprotetores são classificados em função de sua capacidade de trânsito pela membrana plasmática como permeáveis (dimetilsulfóxido, glicerol e 1,2 propanodil (PrOH)) ou não-permeáveis (sacarose, glicose, frutose e trealose (ARGYLE, HARPER E DAVIES, 2016)). O congelamento lento tem como princípio a formação de gelo extracelular, sendo dividido nas fases de pré-congelamento, congelamento, armazenamento, descongelamento e pós-descongelamento (BEHR E SHU, 2010). O processo de vitrificação é caracterizado pela rapidez no processo de resfriamento e pelo uso de uma alta concentração de crioprotetores, o que impede a formação de cristais de gelo, diminuindo os danos as moléculas, sendo hoje em dia o método de vitrificação mais utilizado, devido a sua alta taxa de sucesso (COWARD E WELLS, 2013).

Há vários obstáculos para o sucesso dessa técnica, em razão do ovócito ser uma célula única com baixa permeabilidade e muito suscetível às injúrias causadas pela toxicidade dos crioprotetores e ao choque osmótico (GARDNER, RIZK E FALCONE, 2011). A técnica de vitrificação é preferível nessas situações, devido a melhor preservação das características ultraestruturais do ovócito, como a conservação do fuso mitótico normal (YURCHUK, et al., 2020).

Assim como no caso dos gametas femininos, é importante o uso de crioprotetores no processo de congelamento de sêmen. Porém, estes crioprotetores podem ser associados com efeitos negativos, como estresse osmótico, estresse oxidativo, toxicidade e danos a integridade do DNA espermático. A maior parte dessas injúrias são causadas no processo de descongelamento (MARTINS, AGARWAL E

HENKEL, 2019). Apesar de existirem esforços para a implantação das técnicas de vitrificação, o congelamento lento ainda é a mais utilizada nas clínicas. Os resultados obtidos com o uso desse protocolo são os bons parâmetros de movimento, incluindo velocidade curvilínea e em linha reta dos espermatozoides, após o descongelamento (AGARWAL E TVRDA, 2017; RIOS E BOTELLA, 2019).

A criopreservação de embriões é uma ferramenta conveniente em casos de cancelamento da transferência embrionária devido ao risco de hiperestimulação ovariana ou sangramento endometrial, e também evita o desperdício de embriões excedentes não transferidos obtidos em um ciclo, dentre outros eventos desfavoráveis a implantação embrionária (HERRERO, MARTÍNEZ E GARCIA-VELASCO, 2011). Por serem estruturas multicelulares, os embriões são mais resistentes aos danos provenientes do congelamento e descongelamento. Esses podem ser congelados tanto no estágio de clivagem (dia 2 ou 3 de cultivo), ou no estágio de blastocisto (dia 5 ou 6 de cultivo), sem indícios de alteração da viabilidade pós congelamento. Além disso, gestações obtidas de embriões congelados não estão ligadas ao aumento do risco de aborto ou gravidez ectópicas, quando comparadas transferência de embriões a “fresco” (RODRIGUEZ-WALLBERG, WATERSTONE E ANASTÁCIO, 2019). A vitrificação de embriões é o protocolo atualmente adotado, pois apresenta uma taxa de sobrevivência alta, maior eficiência na recuperação e transferência embrionária e elevadas taxas de gravidez (NAGY, SHAPIRO E CHANG, 2020).

Sabe-se então que a fisiologia reprodutiva é um sistema altamente complexo, e inúmeros fatores podem contribuir causando danos severos á reprodução. É importante encontrar formas de promover hábitos de vida mais saudáveis, com intuito de instigar as pessoas á práticas mais benéficas para sua saúde, tendo assim uma redução de influências externas no potencial de fertilidade.

A medicina e a biotecnologia são de suma importância na área da embriologia. Quando os hábitos saudáveis não são suficientes para manutenção da fertilidade, as inovações dessas áreas tornam possível a união de gametas fora do ambiente uterino, levando esperança a um grande número de casais que não abrem mão do sonho de filhos biológicos. As técnicas de reprodução assistida podem contribuir ativamente para uma melhoria da vida daquelas pessoas que sofrem com problemas decorrentes da incapacidade de reprodução e suas pesquisas vêm buscando cada vez mais aperfeiçoar esse processo afim de obter maiores sucessos.

Considerações finais

O presente trabalho buscou abordar a relação entre a infertilidade e o estilo de vida em mulheres através de uma revisão bibliográfica. Objetivou-se trazer como os hábitos, tais como o consumo de álcool, cigarros, hábitos alimentares e distúrbios psicológicos afetam a taxa de fertilidade feminina, bem como a importância das técnicas de reprodução assistida para auxiliar mulheres a engravidar.

É sabido que existem em torno de 48 milhões de casais sofrendo com a infertilidade no mundo. O diagnóstico de infertilidade pode levar a diversos problemas psicológicos e isolamento das mulheres que experienciam essa condição. Os estudos cada vez mais afirmam que os hábitos podem alterar a fisiologia reprodutiva, causando a infertilidade.

Componentes do cigarro como o cádmio, nicotina e benzo(a)pireno (BaP) são os principais responsáveis pelos efeitos deletérios na fertilidade e na gravidez. A exposição a fumaça do cigarro acarreta em alterações na esteroidogênese ovariana, prejuízos na função e viabilidade do ovócito, depleção de reservas ovocitárias e menopausa precoce. Durante a gravidez, o cigarro pode causar aborto espontâneo, baixa receptividade uterina, danos na metilação do DNA, quebra de dupla fita e altas taxas de embriotoxicidade.

O consumo de álcool pode levar ao desequilíbrio do ciclo menstrual através de flutuações nos níveis de hormônios esteroides, causando desregulação do epigenoma e transcriptoma dos ovócitos, efeitos deletérios nos folículos secundários, antrais, e diminuição prematura das reservas ovarianas. Essa substância pode também afetar a fertilização e a pré-implantação embrionária, levando a diminuição de blastocistos, embriões com morfologia anormal e aumento do risco de aborto.

O microambiente folicular de mulheres com sobrepeso ou obesidade é afetado, resultando em complexos *cumulus-oophorus* com morfologia anormal, altas taxas de aneuploidias e aumento da apoptose. Há também um aumento da taxa de aborto nessas mulheres e a presença de blastocistos com menos células do trofoblasto. Já o sub peso pode resultar em múltiplos distúrbios como amenorreia anovulatória, menstruação encurtada e irregularidades dos ciclos menstruais. Além de baixa receptividade uterina, implantação embrionária pobre e restrição do crescimento fetal.

Condições de depressão, estresse e ansiedade podem impactar a função do corpo lúteo, competência do ovócito e diminuir as taxas de gravidez. Os ovócitos apresentam meiose atrasada, aneuploidias, mudanças no fluido folicular, ambiente folicular mais pobre e aumento do número de folículos em atresia. Embriões expostos a condições de estresse tem uma diminuição expressiva no número de células do trofoblasto e na massa celular interna dos blastocistos. O estresse durante a gravidez pode aumentar em 42% o risco de aborto.

Contudo, apesar da infertilidade ainda ser um problema que afeta uma parcela significativa da sociedade, a reprodução assistida contempla técnicas que objetivam aumentar as taxas de gravidez de casais inférteis. A fertilização *in vitro* tem uma taxa de sucesso entre 50% e 70%. Quando o fator masculino é responsável pela infertilidade, busca-se pela Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), a qual tem como vantagem a utilização de apenas um espermatozoide para que ocorra a fertilização.

A criopreservação dos gametas e embriões pode auxiliar para a preservação da fertilidade por um período prolongado. Existem duas principais técnicas de criopreservação, a vitrificação e o congelamento lento. A vitrificação apresenta maior taxa de sucesso na criopreservação de ovócitos e embriões, e o congelamento lento é preferível na criopreservação de espermatozoides.

Existem algumas limitações frente a esse tema da pesquisa, pelo fato de terem pouquíssimos estudos que utilizam dados humanos e, apesar de modelos animais apresentarem uma boa opção para obtenção de resultados, algumas características que derivam da diferença entre as espécies podem atrapalhar a obtenção de respostas. Estudos *in vitro* também são limitantes e não conseguem dispor resultados que dependem da fisiologia. Embora haja uma grande literatura acerca das causas da infertilidade, foram encontradas algumas brechas de estudos, na influência do estresse durante as fases de foliculogênese e ovogênese e na influência dos assuntos abordados no trabalho durante embriogênese, deixando uma margem para que mais pesquisas sejam feitas.

Referências Bibliográficas

AGARWAL A., TVRDA E. Slow Freezing of Human Sperm. **Cryopreservation of Mammalian Gametes na Embryos: Methods in Molecular Biology**. © Springer Science+Business Media, v. 1568, 2017.

AGÊNCIA BRASIL. Álcool matou mais de 3 milhões de pessoas no mundo em 2016 aponta OMS. 21 de set de 2018. Disponível em: < <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2018-09/alcool-matou-mais-de-3-milhoes-de-pessoas-no-mundo-em-2016-aponta-oms>> Acesso em: 13 de junho, 2021.

ALGARRA, B. et al. The C-terminal region of OVGP1 remodels the zona pellucida and modifies fertility parameters. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 32556, out. 2016.

ARGYLE, C. E.; HARPER, J. C.; DAVIES, M. C. Oocyte cryopreservation: where are we now? **Human Reproduction Update**, v. 22, n. 4, p. 440–449, jun. 2016.

AYDIN, H. et al. Molecular architecture of the human sperm IZUMO1 and egg JUNO fertilization complex. **Nature**, v. 534, n. 7608, p. 562–565, 23 jun. 2016.

BAKHTIYAR, K. et al. An investigation of the effects of infertility on Women's quality of life: a case-control study. **BMC Women's Health**, v. 19, n. 1, p. 114, dez. 2019.

BALA, R. et al. Environment, Lifestyle, and Female Infertility. **Reproductive Sciences**, v. 28, n. 3, p. 617–638, mar. 2021.

BALEN, A. H.; ANDERSON, R. A. Impact of Obesity on female reproductive health: British Fertility Society, Policy and Practice Guidelines. **Human Fertility**, v. 10, n. 4, p. 195–206, jan. 2007.

BARTOLACCI, A. et al. Maternal body mass index affects embryo morphokinetics: a time-lapse study. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 36, n. 6, p. 1109–1116, jun. 2019.

BECK-FRUCHTER, R.; SHALEV, E.; WEISS, A. Clinical benefit using sperm hyaluronic acid binding technique in ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 32, n. 3, p. 286–298, mar. 2016.

BEHR, B.; SHU, Y. Cryopreservation of Human Oocytes and Embryos. In: CARRELL, D. T.; PETERSON, C. M. (Eds.). **Reproductive Endocrinology and Infertility**. New York, NY: Springer New Yorkp. p.689–701, 2010.

BORMANN, C. L. et al. Preparation and Selection of Sperm for IVF and ICSI. In: CARRELL, D. T.; PETERSON, C. M. (Eds.). **Reproductive Endocrinology and Infertility**. New York, NY: Springer New York, p. 579–590, 2010.

BOSCO, C.; DIAZ, E. Placental Hypoxia and Foetal Development Versus Alcohol Exposure in Pregnancy. **Alcohol and Alcoholism**, v. 47, n. 2, p. 109–117, 1 mar. 2012.

BOUTARI, C. et al. The effect of underweight on female and male reproduction. **Metabolism Clinical and Experimental**, p. 14, 2020.

BRINSDEN, P. R.; BOURN HALL CLINIC. **Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction: the Bourn Hall guide to clinical and laboratory practice**. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2005.

BROUGHTON, D. E.; MOLEY, K. H. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 4, p. 840–847, abr. 2017.

BROUGHTON, D.; JUNGHEIM, E. A Focused Look at Obesity and the Preimplantation Trophoblast. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 34, n. 01, p. 005–010, 22 dez. 2015.

BRUGO-OLMEDO, S.; CHILLIK, C.; KOPELMAN, S. Definition and causes of infertility. p. 13, 2000.

BUDANI, M. C.; TIBONI, G. M. Ovotoxicity of cigarette smoke: A systematic review of the literature. **Reproductive Toxicology**, v. 72, p. 164–181, set. 2017.

BURKUŠ, J. et al. Stress exposure during the preimplantation period affects blastocyst lineages and offspring development. **Journal of Reproduction and Development**, v. 61, n. 4, p. 325–331, 2015.

CARPENTER, B. L. et al. Oocyte age and preconceptional alcohol use are highly correlated with epigenetic imprinting of a noncoding RNA (*nc886*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 12, p. e2026580118, 23 mar. 2021.

CHENG, Y. Reproductive toxicity of acute Cd exposure in mouse_ Resulting in oocyte defects and decreased female fertility. **Toxicology and Applied Pharmacology**, p. 12, 2019.

CHUFFA, L. G. A.; PADOVANI, C. R.; MARTINEZ, F. E. Ovarian structure and hormonal status of the UChA and UChB adult rats in response to ethanol. **Maturitas**, v. 62, n. 1, p. 21–29, jan. 2009.

CIECHANOWSKA, M. et al. Effect of short-term and prolonged stress on the biosynthesis of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH receptor (GnRHR) in the hypothalamus and GnRHR in the pituitary of ewes during various physiological states. **Animal Reproduction Science**, v. 174, p. 65–72, nov. 2016.

COLL, T. A. et al. Oxidative stress and cellular and tissue damage in organogenic outbred mouse embryos after moderate perigestational alcohol intake. **Molecular Reproduction and Development**, v. 84, n. 10, p. 1086–1099, out. 2017.

COUSINEAU, T. M.; DOMAR, A. D. Psychological impact of infertility. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 21, n. 2, p. 293–308, abr. 2007.

COWARD, K.; WELLS, D. **Textbook of Clinical Embryology**. [s.l.] Cambridge University Press, 2013.

DECHANET, C. et al. Effets du tabagisme sur la reproduction : de l'ovocyte à l'embryon (Partie I). p. 8, 2011.

DEMIRHAN, O. et al. The genotoxic effect of nicotine on chromosomes of human fetal cells: The first report described as an important study. **Inhalation Toxicology**, p. 6, 2011.

DEMIROL, A.; GUVEN, S. Agonists versus Antagonists in COH. In: ALLAHBADIA, G. N.; MORIMOTO, Y. (Eds.). **Ovarian Stimulation Protocols**. New Delhi: Springer India, p. 79–85, 2016

DETMAR, J.; JURISICOVA, A. Embryonic Resorption and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Putative Immune-mediated Mechanisms. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, v. 56, n. 1, p. 3–17, jan. 2010.

DETMAR, J.; JURISICOVA, A. Embryonic Resorption and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Putative Immune-mediated Mechanisms. p. 16, 2010.

DU, S. et al. Does Maternal Stress Affect the Early Embryonic Microenvironment? Impact of Long-Term Cortisol Stimulation on the Oviduct Epithelium. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 443, 10 jan. 2020.

DURAL, O. et al. Effect of infertility on quality of life of women: a validation study of the Turkish FertiQoL. **Human Fertility**, v. 19, n. 3, p. 186–191, 2 jul. 2016.

ELDER, K.; DALE, B. **In-Vitro Fertilization**. 4. ed. [s.l.] Cambridge University Press, 2019a.

EMANUELE, M. A.; EMANUELE, N. V. Alcohol's Effects on Female Reproductive Function. v. 26, n. 4, p. 8, 2002.

ERBERELLI, R. F. et al. Hyaluronan-binding system for sperm selection enhances pregnancy rates in ICSI cycles associated with male factor infertility. **JBRA Assisted Reproduction**, v. 21, n. 1, 2017.

FARHI, J. et al. High-quality embryos retain their implantation capability in overweight women. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 21, n. 5, p. 706–711, nov. 2010.

FIELD, T. Prenatal depression effects on early development: A review. **Infant Behavior and Development**, v. 34, n. 1, p. 1–14, fev. 2011.

FIGUEIRA, R. DE C. S.; AOKI, T.; BORGES JUNIOR, E. Limitações e controvérsias na determinação do valor preditivo de critérios de morfologia oocitária e embrionária. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 37, n. 11, p. 533–546, nov. 2015.

FINN, D. The Endocrine System and Alcohol Drinking in Females. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 40, n. 2, 2020.

FLEMING, T. P.; VELAZQUEZ, M. A.; ECKERT, J. J. Embryos, DOHaD and David Barker. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 6, n. 5, p. 377–383, out. 2015.

FLOWERS, L. M. **The Effect of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Ovulatory Status in Women.** [s.l.] UC Irvine, 2015.

FONTANA, R.; TORRE, S. D. The Deep Correlation between Energy Metabolism and Reproduction: A View on the Effects of Nutrition for Women Fertility. p. 34, 2016.

FRITZ, M. A.; SPEROFF, L. **Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.** [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

GANNON, A. M.; STÄMPFLI, M. R.; FOSTER, W. G. Cigarette Smoke Exposure Leads to Follicle Loss via an Alternative Ovarian Cell Death Pathway in a Mouse Model. **Toxicological Sciences**, v. 125, n. 1, p. 274–284, jan. 2012.

GAO, Y. et al. Stresses on Female Mice Impair Oocyte Developmental Potential: Effects of Stress Severity and Duration on Oocytes at the Growing Follicle Stage. **Reproductive Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1148–1157, set. 2016.

GARDNER, D. K. et al. (EDS.). **Textbook of assisted reproductive techniques.** Fifth edition ed. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2018.

GARDNER, D. K.; RIZK, B.; FALCONE, T. (EDS.). **Human assisted reproductive technology: future trends in laboratory and clinical practice.** Cambridge ; New York: Cambridge University Press, 2011.

GIVIZIEZ, C. R. et al. Obesity and anovulatory infertility: A review. p. 6, 2016.

GUERRERO-PRESTON, R. et al. Global DNA hypomethylation is associated with in utero exposure to cotinine and perfluorinated alkyl compounds. **Epigenetics**, v. 5, n. 6, p. 539–546, 16 ago. 2010.

GUERRI, C.; PASCUAL, M. Effects of Alcohol on Embryo/Fetal Development. In: **Reproductive and Developmental Toxicology.** [s.l.] Elsevier, 2017. p. 431–445.

GUERRI, C.; PASCUAL, M. Effects of Alcohol on Embryo/Fetal Development. In: **Reproductive and Developmental Toxicology.** [s.l.] Elsevier, p. 431–445, 2017.

GUNDOGAN, F. et al. Dose effect of gestational ethanol exposure on placentation and fetal growth. **Placenta**, v. 36, n. 5, p. 523–530, maio 2015.

GUO, H. et al. Single-Cell RNA Sequencing of Human Embryonic Stem Cell Differentiation Delineates Adverse Effects of Nicotine on Embryonic Development. **Stem Cell Reports**, v. 12, n. 4, p. 772–786, abr. 2019.

HEMBERGER, M.; HANNA, C. W.; DEAN, W. Mechanisms of early placental development in mouse and humans. **Nature Reviews Genetics**, v. 21, n. 1, p. 27–43, jan. 2020.

HENDRIKS, H. F. J. Alcohol and Human Health: What Is the Evidence? **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, n. 1, p. 1–21, 25 mar. 2020.

HERRERO, L.; MARTÍNEZ, M.; GARCIA-VELASCO, J. A. Current status of human oocyte and embryo cryopreservation. **Current Opinion in Obstetrics & Gynecology**, v. 23, n. 4, p. 245–250, ago. 2011.

HEZAVEHEI, M. et al. Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 37, n. 3, p. 327–339, set. 2018.

HSUEH, A. J. W. et al. Intraovarian Control of Early Folliculogenesis. **Endocrine Reviews**, v. 36, n. 1, p. 1–24, 1 fev. 2015.

HUANG, J. et al. Telomere susceptibility to cigarette smoke-induced oxidative damage and chromosomal instability of mouse embryos in vitro. p. 14, 2010.

HUANG, J. Y. J.; ROSENWAKS, Z. Assisted Reproductive Techniques. In: ROSENWAKS, Z.; WASSARMAN, P. M. (Eds.). **Human Fertility**. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer New York, v. 1154, p. 171–231, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Dados e números da prevalência do tabagismo. © 2021 INCA, 05 de mar de 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados-e-numeros-prevalencia-tabagismo>> Acesso em: 13 de junho, 2021.

JOHNSON, M. H. **Essential Reproduction**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2018.

JOSEPH, D.; WHIRLEDGE, S. Stress and the HPA Axis: Balancing Homeostasis and Fertility. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 10, p. 2224, 24 out. 2017.

JUNGHEIM, E. S.; TRAVIESO, J. L.; HOPEMAN, M. M. Weighing the impact of obesity on female reproductive function and fertility. **Nutrition Reviews**, v. 71, p. S3–S8, out. 2013.

KALISCH-SMITH, J. I.; MORITZ, K. M. Detrimental effects of alcohol exposure around conception: putative mechanisms. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 96, n. 2, p. 107–116, abr. 2018.

KAMSANI, Y. S.; RAJIKIN, M. H.; CHATTERJEE, A. Hazardous impact of nicotine on pre- and post implantation embryonic development; effective management by tocotrienol supplementation. p. 11, 2012.

KIM, J. H.; SHIN, H. S.; YUN, E. K. A Dyadic Approach to Infertility Stress, Marital Adjustment, and Depression on Quality of Life in Infertile Couples. **Journal of Holistic Nursing**, v. 36, n. 1, p. 6–14, mar. 2018.

KIM, S.-M.; KIM, J.-S. A Review of Mechanisms of Implantation. **Development & Reproduction**, v. 21, n. 4, p. 351–359, dez. 2017.

KNÖFLER, M. et al. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 76, n. 18, p. 3479–3496, set. 2019.

KNOPIK, V. S.; MACCANI, M. A.; FRANCAZIO, S. The Epigenetics of Maternal Cigarette Smoking During Pregnancy and Effects on Child Development. p. 24, 2013.

KONC, J. et al. Cryopreservation of Embryos and Oocytes in Human Assisted Reproduction. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–9, 2014.

KONSTANTINIDOU, F.; STUPPIA, L.; GATTA, V. Looking Inside the World of Granulosa Cells: The Noxious Effects of Cigarette Smoke. p. 18, 2020.

KUDESIA, R. et al. The effect of female body mass index on in vitro fertilization cycle outcomes: a multi-center analysis. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 35, n. 11, p. 2013–2023, nov. 2018.

LA MARCA, A.; MASTELLARI, E. Infertility: Epidemiology and Etiology. In: PETRAGLIA, F.; FAUSER, B. C. (Eds.). **Female Reproductive Dysfunction**. Endocrinology. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 211–233.

LAROSE, H. et al. Gametogenesis: A journey from inception to conception. In: **Current Topics in Developmental Biology**. [s.l.] Elsevier, v. 132p. 257–310, 2019.

LAWRENZ, B.; COUGHLAN, C.; FATEMI, H. M. Individualized luteal phase support. **Current Opinion in Obstetrics & Gynecology**, v. 31, n. 3, p. 177–182, jun. 2019.

LEARY, C.; LEESE, H. J.; STURMEY, R. G. Human embryos from overweight and obese women display phenotypic and metabolic abnormalities. **Human Reproduction**, v. 30, n. 1, p. 122–132, 1 jan. 2015.

LEE, J. C.; BERNARDI, L. A.; BOOTS, C. E. The association of euploid miscarriage with obesity. **F&S Reports**, v. 1, n. 2, p. 142–148, set. 2020.

LEE, K. W. K.; PAUSOVA, Z. Cigarette smoking and DNA methylation. **Frontiers in Genetics**, v. 4, 2013.

LI, N. et al. Alcohol intake induces diminished ovarian reserve in childbearing age women: Alcohol induces diminished ovarian reserve. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 39, n. 2, p. 516–521, fev. 2013.

LI, S.; WINUTHAYANON, W. Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. **Journal of Endocrinology**, v. 232, n. 1, p. R1–R26, jan. 2017.

LI, Y.; YANG, D.; ZHANG, Q. Impact of overweight and underweight on IVF treatment in Chinese women. **Gynecological Endocrinology**, v. 26, n. 6, p. 416–422, jun. 2010.

LIU, G. et al. Restraint stress delays endometrial adaptive remodeling during mouse embryo implantation. **Stress**, v. 18, n. 6, p. 699–709, 2 nov. 2015.

MALINA, A.; POOLEY, J. A. Psychological consequences of IVF fertilization – Review of research. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 24, n. 4, p. 5, 2017.

MANDÒ, C. et al. Impact of Obesity and Hyperglycemia on Placental Mitochondria. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–10, 14 ago. 2018.

MARDANSHAHÍ, Z. et al. Effects of Benzo(a)pyrene on the endometrial receptivity and embryo implantation in mice: An experimental study. **International Journal of Reproductive BioMedicine**, v. 16, n. 12, p. 745, 27 jan. 2019.

MAROM-HAHAM, L.; SHULMAN, A. Cigarette smoking and hormones. **Reproductive endocrinology**, v. 28, n. 00, p. 6, 2016.

MARTEIL, G.; RICHARD-PARPAILLON, L.; KUBIAK, J. Z. Role of oocyte quality in meiotic maturation and embryonic development. **Reproductive Biology**, v. 9, n. 3, p. 203–224, nov. 2009.

MARTINEZ, M. et al. Chronic ethanol intake leads to structural and molecular alterations in the rat endometrium. **Alcohol**, v. 52, p. 55–61, maio 2016.

MARTINS, A. D.; AGARWAL, A.; HENKEL, R. Sperm Cryopreservation. In: NAGY, Z. P.; VARGHESE, A. C.; AGARWAL, A. (Eds.). **In Vitro Fertilization**. Cham: Springer International Publishing, p. 625–642, 2019.

MASSÁNYI, P. et al. Effects of Cadmium, Lead, and Mercury on the Structure and Function of Reproductive Organs. p. 31, 2020.

MESEN, T. B.; YOUNG, S. L. Progesterone and the Luteal Phase. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 42, n. 1, p. 135–151, mar. 2015.

MOLÈ, M. A.; WEBERLING, A.; ZERNICKA-GOETZ, M. Comparative analysis of human and mouse development: From zygote to pre-gastrulation. In: **Current Topics in Developmental Biology**. [s.l.] Elsevier, v. 136, p.113–138, 2020.

MOLINA-GARCÍA, L. et al. The delay of motherhood: Reasons, determinants, time used to achieve pregnancy, and maternal anxiety level. **PLOS ONE**, v. 14, n. 12, p. e0227063, 30 dez. 2019.

MOORE, K. L. **Embriologia Clinica**. [s.l.] Elsevier Brasil, 2008.

NAGY, Z. P.; SHAPIRO, D.; CHANG, C.-C. Vitrification of the human embryo: a more efficient and safer in vitro fertilization treatment. **Fertility and Sterility**, v. 113, n. 2, p. 241–247, fev. 2020.

NIO-KOBAYASHI, J. et al. Cigarette smoking alters sialylation in the Fallopian tube of women, with implications for the pathogenesis of ectopic pregnancy: SIALYLATION AND ECTOPIC PREGNANCY IN WOMEN. **Molecular Reproduction and Development**, v. 83, n. 12, p. 1083–1091, dez. 2016.

O'NEILL, C. L. et al. Development of ICSI. **Reproduction**, v. 156, n. 1, p. F51–F58, jul. 2018.

PALERMO, G. D. et al. Intracytoplasmic Sperm Injection. In: NAGY, Z. P.; VARGHESE, A. C.; AGARWAL, A. (Eds.). **In Vitro Fertilization**. Cham: Springer International Publishing, p. 399–413, 2019.

PALOMBA, S. et al. Lifestyle and fertility: the influence of stress and quality of life on female fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 16, n. 1, p. 113, dez. 2018.

PANTASRI, T.; NORMAN, R. J. The effects of being overweight and obese on female reproduction: a review. **Gynecological Endocrinology**, v. 30, n. 2, p. 90–94, fev. 2014.

PANTASRI, T.; NORMAN, R. J. The effects of being overweight and obese on female reproduction: a review. **Gynecol Endocrinol**, p. 5, 2013.

PAPALE, L. et al. The zygote. **Human Reproduction**, v. 27, n. suppl 1, p. i22–i49, 1 ago. 2012.

PASQUALI, R.; PATTON, L.; GAMBINERI, A. Obesity and infertility: **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 14, n. 6, p. 482–487, dez. 2007.

PATRAT, C. et al. Optimal Timing for Oocyte Denudation and Intracytoplasmic Sperm Injection. **Obstetrics and Gynecology International**, v. 2012, p. 1–7, 2012.

PATRICK, M. E.; FAIRLIE, A. M.; LEE, C. M. Motives for simultaneous alcohol and marijuana use among young adults. **Addictive Behaviors**, v. 76, p. 363–369, jan. 2018.

PEREZ-TITO, L.; BEVILACQUA, E.; CEBRAL, E. Peri-implantational in vivo and in vitro embryo-trophoblast development after perigestational alcohol exposure in the CD-1 mouse. **Drug Chem Toxicol**, p. 14, 2014.

POTERASU, M. et al. Anorexia nervosa and reproduction: connecting brain to gonads. **Journal of Mind and Medical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 1–8, 4 abr. 2020.

QU, F. et al. The association between psychological stress and miscarriage: A systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1731, dez. 2017.

RACHDAOUI, N.; SARKAR, D. K. Effects of Alcohol on the Endocrine System. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 42, n. 3, p. 593–615, set. 2013.

RAKERS, F. et al. Transfer of maternal psychosocial stress to the fetus. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 117, p. 185–197, out. 2020.

RAMESH, A.; HARRIS, K. J.; ARCHIBONG, A. E. Reproductive Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. In: **Reproductive and Developmental Toxicology**. [s.l.] Elsevier, p. 745–763, 2017.

RICHARDSON H. N., et al. Alcohol self-administration acutely stimulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, but alcohol dependence leads to a dampened neuroendocrine state. In: **European Journal of Neuroscience**, v. 28, p.1641-1653, ago. 2008.

RICHARDSON, M. C. et al. Environmental and developmental origins of ovarian reserve. **Human Reproduction Update**, v. 20, n. 3, p. 353–369, 1 maio 2014.

RIMON-DAHARI, N. et al. Ovarian Folliculogenesis. In: PIPREK, R. P. (Ed.). **Molecular Mechanisms of Cell Differentiation in Gonad Development**. Results and Problems in Cell Differentiation. Cham: Springer International Publishing, v. 58p. 167–190, 2016.

RIOS A. P., BOTELLA I. M. Description and Outcomes of Current Clinical Techniques for Sperm Cryopreservation. **Reproductive Health**, European Medical Journal, p.79–92, ago. 2019.

RODRIGUEZ-WALLBERG, K. A.; WATERSTONE, M.; ANASTÁCIO, A. Ice age: Cryopreservation in assisted reproduction – An update. **Reproductive Biology**, v. 19, n. 2, p. 119–126, jun. 2019.

ROUPA, Z. et al. Causes of infertility in women at reproductive age. **Health Science Journal**, v. 3, p. 80–87, 1 abr. 2009.

RUSSELL, R. T.; CHONG, D. Embryo Transfer. In: ALLAHBADIA, G. N. et al. (Eds.). **Textbook of Assisted Reproduction**. Singapore: Springer Singapore, p. 183–189, 2020.

SCHOOLCRAFT, W. B. Importance of embryo transfer technique in maximizing assisted reproductive outcomes. **Fertility and Sterility**, v. 105, n. 4, p. 855–860, abr. 2016.

SHARMA, R. et al. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 11, n. 1, p. 66, 2013.

SHAW, J.; STEEGERS, E. A. P.; VERBIEST, S. (EDS.). **Preconception Health and Care: A Life Course Approach**. Cham: Springer International Publishing, 2020.

SHIN, D. H.; TUREK, P. J. Sperm retrieval techniques. **Nature Reviews Urology**, v. 10, n. 12, p. 723–730, dez. 2013.

SILVESTRIS, E. Obesity as disruptor of the female fertility. p. 13, 2018.

SINKO, I. et al. Effect of cigarette smoking on DNA damage of human cumulus cells analyzed by comet assay. **Reproductive Toxicology**, p. 7, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA. Brasil é protagonista em tratamentos de reprodução assistida, aponta relatório da anvisa. © 2020 SBRA, 16 de jun de 2020. Disponível em: < <https://sbra.com.br/noticias/brasil-e-protagonista-em-tratamentos-de-reproducao-assistida-aponta-relatorio-da-anvisa/>>. Acesso em: 13 de junho, 2021.

STANEVA, A. et al. The effects of maternal depression, anxiety, and perceived stress during pregnancy on preterm birth: A systematic review. **Women and Birth**, v. 28, n. 3, p. 179–193, set. 2015.

STRAUSS, J. F.; BARBIERI, R. L. (EDS.). **Yen & Jaffe's reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology, and clinical management**. Eighth edition ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2019.

SUNDERMANN, A. C. et al. Week-by-week alcohol consumption in early pregnancy and spontaneous abortion risk: a prospective cohort study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 224, n. 1, p. 97.e1-97.e16, jan. 2021.

TOMAC, J.; CEKINOVI, I.; ARAPOVI, J. Biology of the Corpus luteum. **Period biol**, v. 113, n. 1, p. 7, 2011.

TRIUNFO, S.; LANZONE, A. Impact of maternal under nutrition on obstetric outcomes. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 38, n. 1, p. 31–38, jan. 2015.

TURCO, M. Y.; MOFFETT, A. Development of the human placenta. **Development**, v. 146, n. 22, p. dev163428, 15 nov. 2019.

VALSAMAKIS, G.; CHROUSOS, G.; MASTORAKOS, G. Stress, female reproduction and pregnancy. **Psychoneuroendocrinology**, v. 100, p. 48–57, fev. 2019.

VELAZQUEZ, M. A. Impact of maternal malnutrition during the periconceptional period on mammalian preimplantation embryo development. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 51, p. 27–45, abr. 2015.

VERHEYEN, G.; POPOVIC-TODOROVIC, B.; TOURNAYE, H. Processing and selection of surgically-retrieved sperm for ICSI: a review. **Basic and Clinical Andrology**, v. 27, n. 1, p. 6, dez. 2017.

WAJANT, H. The Fas Signaling Pathway: More Than a Paradigm. **Science**, v. 296, n. 5573, p. 1635–1636, 31 maio 2002.

WALLS, M. L.; HART, R. J. In vitro maturation. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 53, p. 60–72, nov. 2018.

WAMAITHA, S. E.; NIAKAN, K. K. Human Pre-gastrulation Development. In: **Current Topics in Developmental Biology**. [s.l.] Elsevier, v. 128, p.295–338, 2018.

WAN, X. et al. Rat ovarian follicle bioassay reveals adverse effects of cadmium chloride (CdCl₂) exposure on follicle development and oocyte maturation. **Toxicology and Industrial Health**, p. 10, 2010.

WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Disponível em: <<https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241547789>>. Acesso em: 20 maio. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Infertility. © 2021 WHO, 14 set. 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>>. Acesso em: 20 de maio, 2021.

XU, W. et al. Effects of Alcohol on Mitochondrial Functions of Cumulus Cells in Mice. **Cellular Reprogramming**, v. 19, n. 2, p. 123–131, abr. 2017.

XUYING WAN et al. Rat ovarian follicle bioassay reveals adverse effects of cadmium chloride (CdCl₂) exposure on follicle development and oocyte maturation. **Toxicology and Industrial Health**, v. 26, n. 9, p. 609–618, out. 2010.

YANUSHPOLSKY, E. Luteal Phase Support in In Vitro Fertilization. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 33, n. 02, p. 118–127, 3 mar. 2015.

YOUNESS, E. M. Lifestyle factors between fertile and infertile women at Assiut. **Women's Health Hospital**. p. 12, 2020.

YURCHUK T., et al. Oocyte Cryopreservation in Emergency Situations: Perspectives and Reality. **Reproductive Health**, v.6, p.54-62, 2020.

ZEID, D.; GOULD, T. J. Impact of nicotine, alcohol, and cocaine exposure on germline integrity and epigenome. **Neuropharmacology**, v. 173, p. 108127, ago. 2020.

ZHAI, Q.-Y. et al. Review of psychological stress on oocyte and early embryonic development in female mice. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 18, n. 1, p. 101, dez. 2020.

ZHAN, S. et al. Benzo(a)pyrene disrupts mouse preimplantation embryo development. **Fertility and Sterility**, v. 103, n. 3, p. 815–825, 1 mar. 2015.

ZHANG D. et al., Supplement of Betaine into Embryo Culture Medium Can Rescue Injury Effect of Ethanol on Mouse Embryo Development. **Scientific Reports**. 29 de Jan. 2018.

ZHENG, L.-L. et al. Preimplantation maternal stress impairs embryo development by inducing oviductal apoptosis with activation of the Fas system. **Molecular Human Reproduction**, v. 22, n. 11, p. 778–790, nov. 2016.