

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Anna Julia Rodrigues Santos

**ONCOFERTILIDADE: PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE FEMININA POR MEIO
DE TÉCNICAS DE CRIOPRESERVAÇÃO DO TECIDO OVARIANO**

São Paulo

2022

Anna Julia Rodrigues Santos - RA: SPGR011632

**ONCOFERTILIDADE: PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE FEMININA POR MEIO
DE TÉCNICAS DE CRIOPRESERVAÇÃO DO TECIDO OVARIANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Rodrigo Alessandro Riemma Vela, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2022

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Santos, Anna Julia Rodrigues

Oncofertilidade: preservação da fertilidade feminina por meio de técnicas de criopreservação do tecido ovariano / Anna Julia Rodrigues Santos. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2022.
59 p.

Orientação de Rodrigo Alessandro Riemma Vela.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2022.

1. Criopreservação 2. Infertilidade 3. Neoplasias 4. Ovário 5. Saúde reprodutiva I. Vela, Rodrigo Alessandro Riemma II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 618.178

Anna Julia Rodrigues Santos - RA: SPGR011632

**ONCOFERTILIDADE: PRESERVAÇÃO DA FERTILIDADE FEMININA POR MEIO
DE TÉCNICAS DE CRIOPRESERVAÇÃO DO TECIDO OVARIANO**

São Paulo, 09 de novembro de 2022.

Rodrigo Alessandro Riemma Vela

Professor Examinador

São Paulo

2022

RESUMO

Os casos de neoplasia em mulheres em idade reprodutiva estão crescentes ao longo das últimas décadas, assim como as taxas de sobrevivência devido aos tratamentos oncológicos. Entretanto, algumas opções altamente recomendadas para o tratamento antineoplásico apresentam efeitos gonadotóxicos, como a quimioterapia e a radioterapia. Sendo a infertilidade uma consequência direta, este trabalho tem como objetivo apresentar técnicas que podem ser utilizadas para preservar a fertilidade de mulheres acometidas por câncer. Comparando as opções disponíveis de preservação da fertilidade, elencando o mais adequado para o caso. A metodologia utilizada para a realização desse trabalho de revisão bibliográfica consistiu na revisão de livros relacionados ao tema, assim como em algumas bases de dados: LILACS, PubMed e Scielo. Assim, reconheceu-se a criopreservação como a principal técnica de preservação disponível, devendo ponderar a peculiaridade de caso para indicar a melhor alternativa disponível. A criopreservação de oócitos e/ou embrião estão entre as técnicas preferenciais. Entretanto a criopreservação de tecido ovariano está se sobressaindo com as grandes vantagens apresentadas. Constatou-se também que a vitrificação é o protocolo de congelamento mais utilizado, com uma aderência consideravelmente maior ao protocolo de congelamento lento. No entanto, muitas vezes o planejamento reprodutivo não é apresentado para a paciente, impedindo-a de garantir a maternidade no futuro, se assim o quiser. Esta revisão de literatura contribuiu para esclarecimentos sobre as técnicas disponíveis de criopreservação para reprodução humana assistida.

Palavras chaves: Criopreservação. Tecido Ovariano. Infertilidade. Neoplasias. Oncofertilidade. Saúde Reprodutiva.

ABSTRACT

Cases of cancer in women of reproductive age are increasing over the last decades, as are survival rates due to oncologic treatment. However, some highly recommended options for antineoplastic treatment have gonadotoxic effects, such as chemotherapy and radiotherapy. Since infertility is a direct consequence, this paper aims to analyze techniques that can be used to preserve the fertility of women affected by cancer. It compares the available options for the preservation of fertility, listing the most appropriate for the case. The methodology used for this bibliographic review consisted of a review of books related to the theme, as well as some databases: LILACS, PubMed and Scielo. Thus, cryopreservation was recognized as the main available preservation technique, and the peculiarity of each case should be considered to indicate the best available alternative. Oocyte and/or embryo cryopreservation are among the preferred techniques. However, the cryopreservation of ovarian tissue is standing out with the great advantages presented. Vitrification was also found to be the most widely used freezing protocol, with considerably greater adherence to the slow freezing protocol. However, many times the reproductive planning is not presented to the patient, preventing her from ensuring motherhood in the future, if she so wishes. This literature review has contributed to clarify the available cryopreservation techniques for assisted human reproduction.

Keywords: Cryopreservation. Ovarian tissue. Infertility. Neoplasms. Oncofertility. Reproductive Health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mutação e Câncer	12
Figura 02: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma	13
Figura 03: Mecanismos propostos de dano ovariano induzido por quimioterapia e depleção folicular	15
Figura 04: Pacientes com câncer que possuíam interesse na paternidade que foram submetidos à preservação da fertilidade	21
Figura 05: Ciclo Menstrual	23
Figura 06: Protocolo com bloqueio hipofisário curto com antagonista de GnRH	24
Figura 07: Inserção do embrião na palheta no processo de vitrificação	27
Figura 08: Equipamento de Congelamento Lento	28
Figura 09: Indução da formação de gele seeding pelo método lento	29
Figura 10: Três etapas da vitrificação pelo protocolo Cryotech	30
Figura 11: Processo de vitrificação pelo protocolo Cryotech	31
Figura 12: Acompanhamento do desenvolvimento embrionário pelo sistema de Time Lapse	34
Figura 13: Oócito MII	36
Figura 14: Secção transversal de um ovário	39
Figura 15: Tuba e ovário direito com folículo dominante	40
Figura 16: Fragmento de córtex ovariano	41
Figura 17: Implante de fragmentos do ovário criopreservado	42
Figura 18: Preservação e restauração da fertilidade através das técnicas de criopreservação de oócitos e de tecido ovariano	43

LISTA DE ABREVIATURAS

ART	Tecnologias de reprodução assistida
ASCO	Sociedade Americana de Oncologia Clínica
ASRM	Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva
CEFERP	Centro de Fertilidade de Ribeirão Preto
CP	Criopreservação
CTO	Criopreservação do tecido ovariano
ES	<i>Equilibration solution</i>
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
FOP	Falência ovariana precoce
FP	Folículos primordiais
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
INCA	Instituto Nacional de Câncer
LH	Hormônio Luteinizante
PF	Preservação da fertilidade
POF	Falência ovariana prematura
RA	Reprodução assistida
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VS	<i>Vitrification solution</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVO	12
3 METODOLOGIA	13
4 DESENVOLVIMENTO	14
4.1 Efeitos da quimioterapia e radioterapia	16
4.2 Reprodução Humana alinhada a Oncologia	20
4.3 Preservação da fertilidade	24
5 CRIOPRESERVAÇÃO	28
5.1 Protocolo de congelamento lento e vitrificação	30
6 PRINCIPAIS OPÇÕES DE CRIOPRESERVAÇÃO	34
6.1 Criopreservação de Embriões	35
6.2 Criopreservação de Oócitos	37
7 TECIDO OVARIANO	39
7.1 Restauração da fertilidade	42
7.2 Congelamento lento vs Vitrificação	45
7.3 Contraindicações	47
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A criopreservação (CP) utiliza do princípio de baixas temperaturas para preservar células e tecidos intactos, e essa tem sido uma alternativa promissora para a recuperação da fertilidade, permitindo a preservação de oócitos e embriões que seriam perdidos pelo processo natural de atresia, a partir de tratamentos com drogas gonadotóxicas. A atresia folicular pode ser desenvolvida a partir da utilização de fármacos citotóxicos, além da radiação ionizante, que pode inibir a divisão celular e o funcionamento correto do DNA provocando um dano irreversível (TOMÁS *et al.*, 2016). A CP consiste no uso da criobiologia, técnica que permite a conservação de material biológico em temperaturas abaixo de zero. Impedindo toda atividade biológica e permitindo a preservação futura (CARVALHO; LIMA, 2020).

Atualmente, dois métodos de criopreservação são utilizados: congelação lenta e a vitrificação. Na congelação lenta, ocorre a exposição gradual ao crioprotetor, resfriando em temperaturas abaixo de 0°C para assim serem armazenados em nitrogênio líquido a -196°C (MONTEIRO, 2020). Esse processo pode ocasionar a formação de cristais de gelo no interior da célula, o que compromete a integridade estrutural celular. Por outro lado, a vitrificação é um método que previne a cristalização da água, onde ocorre um aumento radical da concentração dos crioprotetores e da taxa de resfriamento, ocasionando a solidificação de toda a solução e impedindo a formação de cristais de gelo e consequentes danos celulares (CARVALHO; LIMA, 2020).

É amplamente conhecido que a quimioterapia e radioterapia, utilizadas no tratamento do câncer, prejudicam a sobrevivência de células saudáveis e por isso possuem efeitos negativos sobre a qualidade de vida, ocasionando a falência ovariana completa e, conseqüentemente, a infertilidade feminina (CAVAGNA; DZIK; MIKLOS, 2017). Uma das principais complicações devido ao tratamento é o comprometimento da função ovariana, podendo estar relacionada à dose dos agentes quimioterápicos, sendo irreversível na maioria dos casos. Após um determinado período sem recidiva, muitas mulheres apresentam amenorréia, distúrbio este caracterizado pela ausência da menstruação de forma transitória ou permanente, além da diminuição de folículos primordiais, mais vulneráveis à quimioterapia, ocasionando a menopausa precoce. É fundamental que especialistas em fertilidade avaliem o caso e determinem quais são

as melhores opções para a paciente, considerando os riscos de exposição à hormônios para estimulação ovariana (LEVINE *et al.*, 2015).

A criopreservação habilita e permite pacientes com câncer contarem com outras chances de se conseguir uma gravidez, mas a técnica, geralmente, só entra em questão após o término do tratamento. Isso acontece porque a primeira preocupação do médico e seu paciente é combater o câncer, deixando as possíveis complicações do tratamento para um segundo momento. Para a coleta e preservação, cada caso deve ser tratado de forma individual e com extrema cautela, analisando as possíveis consequências geradas pela exposição e como isso pode impactar negativamente o tratamento oncológico (SCIORIO, 2020).

Caso a paciente necessite de quimioterapia, avalia-se que entre o período de três a cinco semanas para iniciar o tratamento, há a possibilidade da administração de fármacos que promovam a estimulação ovariana, para que haja um número maior de oócitos a serem vitrificados, garantindo melhor resultados no futuro (CASTELLOTTI; CAMBIAGHI, 2008). É considerada uma boa técnica por ser eficaz e proporcionar atualmente uma taxa de sobrevivência do oócito, considerando sua vitrificação, 80%, sendo restrita a pacientes que não necessitam de um tratamento oncológico imediato (CAVAGNA; DZIK; MIKLOS, 2017).

Muitas mulheres com problemas de fertilidade se beneficiam do congelamento de oócitos, porém existem pacientes que não podem realizar esse procedimento devido às condições médicas, como o câncer com urgência de tratamento. O ovário é um órgão do sistema reprodutivo muito sensível ao tratamento com agentes citotóxicos, nestas circunstâncias, a criopreservação do tecido ovariano tem se tornado uma alternativa promissora para preservar a fertilidade de pacientes com câncer (RIBEIRO; MONTEIRO; OLIVEIRA, 2020). Conforme a evolução da área, observa-se um futuro promissor para o congelamento do tecido ovariano, como uma técnica que pode ser realizada em mulheres e jovens que não atingiram a puberdade. Igualmente, pacientes que não podem se submeter à indução da ovulação com hormônios podem se beneficiar da técnica (MORAES *et al.*, 2019).

O congelamento do tecido ovariano permite a preservação de grande parte de folículos primordiais, obtendo oócitos viáveis para uma posterior fertilização. Esta técnica poderá tornar-se uma das principais alternativas para pacientes em estágio avançado, como mulheres com alto risco de disseminação maligna (CARVALHO *et*

al., 2021), eliminando a necessidade de retardar o tratamento do câncer para a estimulação hormonal (RIBEIRO; MONTEIRO; OLIVEIRA, 2020). Além disso, o transplante de tecido ovariano não apenas restaura a fertilidade, mas também pode restaurar a função endócrina da paciente (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Ao receber o diagnóstico de câncer, a criopreservação de oócitos e do tecido ovariano podem e devem ser, cuidadosamente, considerados antes do tratamento do câncer, como uma alternativa terapêutica para a preservação da fertilidade feminina e a função endócrina (RIBEIRO; MONTEIRO; OLIVEIRA, 2020). Sabendo dos riscos causados pelas drogas citotóxicas empregadas na quimioterapia e radioterapia, é importante que o oncologista informe sobre as técnicas de reprodução humana assistida disponíveis e aplicáveis em cada caso. Assim, poderá manter a integridade da fertilidade da mulher, impactando positivamente na qualidade de vida de indivíduos sobreviventes de câncer, com destaque para aqueles sem filhos (SILVA *et al.*, 2021).

2 OBJETIVO

2.2 GERAL

O presente estudo tem como objetivo apresentar as técnicas de criopreservação para reprodução humana assistida, com ênfase na preservação do tecido ovariano, abordando técnicas que podem ser utilizadas para preservar a fertilidade de mulheres acometidas por câncer.

2.2 ESPECÍFICOS

- Demonstrar o efeito dos vários tipos de tratamento contra o câncer na fertilidade feminina.
- Apresentar as técnicas utilizadas de criopreservação.
- Comparar os tipos de preservação da fertilidade elencando o mais adequado para o caso.
- Verificar as indicações e utilizações da técnica de criopreservação do tecido ovariano.

3 METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa básica, pois, conforme Appolinário (2011, p. 146), o principal objetivo deste tipo de pesquisa é “[...] o avanço do conhecimento científico, sem nenhuma preocupação com a aplicabilidade imediata dos resultados a serem colhidos”. Quanto aos seus objetivos, a pesquisa classifica-se como exploratória, considerando que, quando a pesquisa é de cunho exploratório, tem caráter descritivo e busca o entendimento do fenômeno como um todo (GODOY, 1995). Assim, também foi descritiva, pois, segundo Bervian; Cervo e Silva (2002, p. 66) neste tipo de estudo se “[...] observa, registra, analisa e correlaciona fatos e fenômenos [...] sem manipulá-los”.

No que diz respeito aos procedimentos, foi realizada uma revisão narrativa da literatura e um levantamento retrospectivo de dados entre os anos de 2014 e 2022, priorizando dados dos últimos 5 anos por se tratar de uma área em constante desenvolvimento. Utilizando as bibliografias nos idiomas português, inglês e espanhol nas bases de dados: LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências Sociais e da Saúde), PubMed, no portal de revista eletrônica Scielo (Scientific Electronic Library Online) e em livros relacionados com os temas envolvendo as técnicas de preservação da fertilidade para pacientes oncológicos. Assim, este estudo também foi bibliográfico, pois, conforme Boccato (2006, p. 266), “[...] a pesquisa bibliográfica busca a resolução de um problema (hipótese) por meio de referenciais teóricos publicados, analisando e discutindo as várias contribuições científicas. Esse tipo de pesquisa trará subsídios para o conhecimento sobre o que foi pesquisado, como e sob que enfoque e/ou perspectivas foi tratado o assunto apresentado na literatura científica.

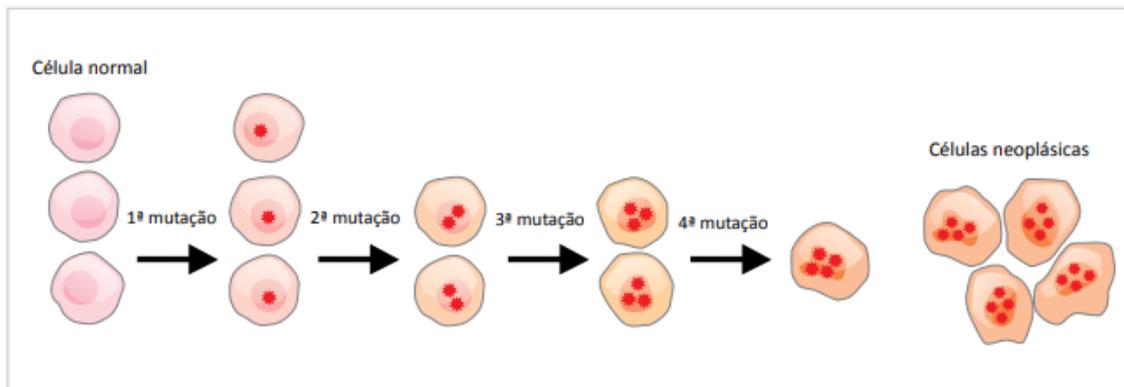
A abordagem caracterizou-se como qualitativa, pois, conforme Fontelles et al. (2009, p. 6) “É o tipo de pesquisa apropriada para quem busca o entendimento de fenômenos complexos específicos, em profundidade, de natureza social e cultural, mediante descrições, interpretações e comparações [...]”.

Para a pesquisa foram utilizados os seguintes descritores: criopreservação, neoplasias, tecido ovariano, infertilidade, congelamento de embrião, congelamento de oócito, congelamento de tecido ovariano, preservação da fertilidade, quimioterapia, radioterapia e infertilidade.

4 DESENVOLVIMENTO

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer é caracterizado pela perda do controle da divisão celular e pela capacidade de invadir outras estruturas orgânicas, podendo apresentar um crescimento controlado ou não. Esse crescimento celular não controlado, conforme figura 1, caracterizado como neoplasia maligna ocorre devido a alterações genéticas e proliferação anormal (BRASIL, 2022).

Figura 1 – Mutação e Câncer



Fonte: BRASIL, 2020. Ilustração de Mariana F. Teles. Células normais passam a receber instruções erradas para suas atividades devido ao sofrimento de alterações genéticas.

O desenvolvimento do câncer leva o nome de carcinogênese e é determinado pela exposição a agentes cancerígenos, responsáveis pela iniciação, promoção e progressão do tumor (BRASIL, 2020). No entanto, as características individuais devem ser consideradas para a facilidade ou dificuldade da instalação do dano celular. Dessa forma, essa condição pode acometer principalmente aqueles que estão expostos a fatores de risco e/ou possuem predisposição (PIRES; SOUZA; SILVA, 2020).

Os casos de neoplasia estão crescentes no Brasil, alcançando o número de 685.960 novos casos de neoplasias malignas corrigidas para sub-registro em 2020. Sendo que 297.980 dos casos são em mulheres e 29,7% dos casos têm como sítio primário do tumor a mama feminina (FIGURA 2). Estima-se um risco de 61,61 casos novos de câncer de mama a cada 100 mil mulheres para cada triênio 2020-2022 (BRASIL, 2020).

Figura 02 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma

	Localização primária	Casos	%
Mulheres 	Mama feminina	66.280	29,7%
	Cólon e Reto	20.470	9,2%
	Colo do útero	16.710	7,5%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6%
	Glândula Tireoide	11.950	5,4%
	Estômago	7.870	3,5%
	Ovário	6.650	3,0%
	Corpo do útero	6.540	2,9%
	Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
	Sistema Nervoso Central	5.230	2,3%

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2020. Observa-se que o câncer de mama feminina ocupa a primeira posição entre os mais incidentes entre as mulheres, com o triplo de número de casos da segunda posição.

Uma ou mais modalidade de técnicas escolhidas pelo médico são utilizadas para o tratamento do câncer com base na condição clínica do paciente. Entre as principais, encontra-se a cirurgia oncológica que faz a retirada do tumor através de operações, a radioterapia, caracterizada por um tratamento que utiliza radiações para destruir um tumor ou impedir que as células aumentem, e a quimioterapia, que se utiliza de medicamentos para destruir as células que formam um tumor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; BRASIL, 2022).

Os tratamentos contra os diversos tipos de câncer que tem como base técnicas a quimioterapia e radioterapia trouxeram esperança para pacientes acometidos, mas estes não são isentos de toxicidade. Os fármacos utilizados e as radiações ionizantes não atingem somente as células tumorais, mas também tecidos e órgãos saudáveis, danificando outros sistemas, como por exemplo, o sistema reprodutor (BENOIT *et al.*, 2020). Segundo Dolmans e Manavella (2018), a maioria dos tratamentos contra o câncer são altamente tóxicos para as gônadas, trazendo um impacto negativo para as

mulheres com a subsequente infertilidade e causando um impacto físico, emocional, econômico e social.

4.1 Efeitos da quimioterapia e radioterapia

Os efeitos colaterais da quimioterapia e da radioterapia são diversos e estão relacionados a vários fatores, como a idade do paciente, o tempo de tratamento e a dose administrada (ROSA *et al.*, 2019). Esses fatores acarretam uma drástica diminuição na qualidade de vida desses pacientes, já que um dos efeitos colaterais mais difíceis de enfrentar é a infertilidade, que nas mulheres é ocasionada principalmente devido ao dano ovariano e subsequente falência ovariana prematura (POF) (HAO *et al.*, 2019). Assim, segundo Jayasingue *et al.* (2018), o comprometimento da função reprodutiva é o efeito colateral mais prevalente do tratamento anticâncer a longo prazo.

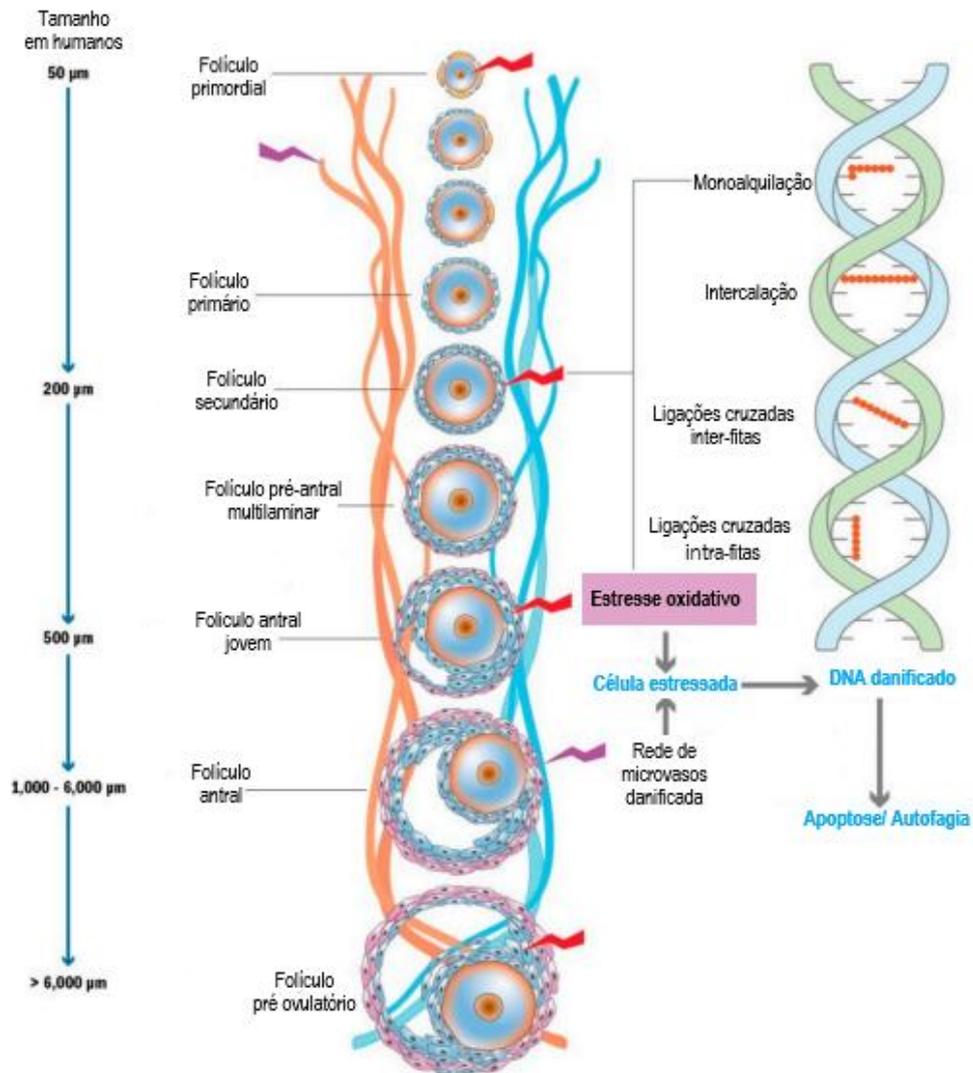
A reserva ovariana é um conjunto finito de folículos primordiais estabelecidos ainda no desenvolvimento embrionário, sendo esses recrutados continuamente ao longo da vida (BEDOSCHI; NAVARRO; OKTAY, 2016). Com o avançar da idade, há um declínio progressivo no número de folículos, além da diminuição da qualidade deles. Esse recrutamento limita a vida reprodutiva da mulher e além dessa causa natural, a exposição à radiação e diferentes agentes tóxicos pode acelerar esse processo (HAO *et al.*, 2019).

Os quimioterápicos são drogas citotóxicas utilizadas no tratamento do câncer, pois possuem a capacidade de inibir a divisão celular das células tumorais e/ou desencadeiam a morte dessas células. Todavia, aqueles com propriedades alquilantes (agentes com capacidade de se ligar ao DNA e causar morte celular), têm demonstrado alta toxicidade gonadal no sexo feminino, o que resulta na depleção folicular, amenorreia e infertilidade (HAO *et al.*, 2019).

Existem duas hipóteses que justificam o dano ovariano induzido na quimioterapia, onde os impactos dos agentes quimioterápicos nos folículos e vias apoptóticas foram documentados. O mecanismo primário e primeira justificativa acarreta a perda dos folículos primordiais por apoptose (Figura 3), no qual os agentes quimioterápicos induzem diretamente danos ao DNA (como quebra de fitas duplas, ligações cruzadas e monoalquilação) resultando em apoptose e/ou autofagia, como também podem causar danos indiretos ao DNA, aumentando o estresse oxidativo ou danificar a rede de microvasos ovarianos ocasionando isquemia ou privação de

nutrientes (BEDOSCHI; MADDEN; THOMAS; KEATING, 2017; NAVARRO; OKTAY, 2016).

Figura 03 – Mecanismo proposto de dano ovariano induzido por quimioterapia e depleção folicular



Fonte: Adaptado de Hao *et al.*, 2019. Os folículos se tornam muito sensíveis às lesões diretas nas cadeias de DNA (ligações cruzadas inter e intra-fitas, intercalação e monoalquilação), sendo a resposta de reparação pouco eficiente ocasionando a apoptose e/ou autofagia.

Por outro lado, a segunda e mais recente justificativa propõe a super ativação dos folículos primordiais dormentes como um mecanismo secundário. Ao causar uma depleção aguda, a quimioterapia diminui a produção de fatores inibitórios do desenvolvimento de folículos primordiais, com super ativação e recrutamento muito

acelerado dos mesmos, numa tentativa de restituir os folículos em desenvolvimento perdidos (HAO *et al.*, 2019; SONIGO *et al.*, 2019).

Conhecido como “efeito *burnout*”, esse mecanismo consiste no desencadeamento do recrutamento do crescimento folicular dormente, já que os agentes citotóxicos destroem os folículos em crescimento. Isso resultaria em uma menor produção de fatores inibitórios da ativação, levando à ativação folicular em massa. Ocorrendo simultaneamente com a apoptose de folículos em crescimento, a quimioterapia induz tanto a ativação da via de sinalização de recrutamento de folículos primordiais quanto a atresia dos folículos em crescimento. Uma vez ativados, essas duas ações causam depleção folicular por ativação maciça devido à ação dos quimioterápicos, reduzindo, portanto, a população folicular (SONIGO *et al.*, 2019).

Já na radioterapia, utilizam-se radiações ionizantes para a destruição das células neoplásicas, impedindo assim que elas se multipliquem (BRASIL, 2020). Apesar de desempenhar um papel importante no tratamento do câncer e muitas vezes constituir a primeira terapia proposta ao paciente, as radiações ionizantes também têm ação gonadotóxica com efeitos a longo prazo (MARCI *et al.*, 2018).

A radiação ionizante possui uma alta energia capaz de retirar elétrons de uma camada eletrônica, deixando os átomos com uma carga positiva, chamada de ionização (OKUNO; YOSHIMURA, 2010). Segundo Marci *et al.* (2018), a consequência biológica sobre as células é um dano direto onde o elétron deslocado quebra a fita de DNA e/ou um dano indireto onde o elétron reage com moléculas de água resultando na criação de radicais livres que danificam o DNA da célula. Uma quebra da dupla fita permite o reparo incorreto desse ácido nucleico, levando à morte celular, sendo comumente aplicada devido à sua capacidade de controlar o crescimento celular.

O impacto da irradiação no potencial reprodutivo depende de vários fatores, como idade do paciente e o campo de irradiação (MUÑOZ *et al.*, 2016). Conforme verificado na tabela 1, as gônadas são extremamente vulneráveis às radiações ionizantes na fase de pré-puberdade e estima-se que ≤ 2 Gy de radiação local destruiria metade dos oócitos imaturos, enquanto 25-50 Gy resultariam em infertilidade em um terço das mulheres jovens e em quase todas as mulheres com mais de 40 anos de idade (MARCI *et al.*, 2018). Mesmo que as disfunções dos órgãos

reprodutivos após a radiação possam ser temporárias, a recuperação é muitas vezes imprevisível e, em alguns casos, o dano pode ser permanente (BIEDKA *et al.*, 2016).

Para maior compreensão, uma dose considerada alta é maior que 1 Gy enquanto uma dose baixa é menor que 100mGy, um exemplo utilizado rotineiramente é o comum exame de Raios X de tórax (vista frontal – AP ou PA) que fornece uma dose média de cerca de 0,02 mSv, correspondente a 0,002 mGy. Estudiosos sugerem que uma dose de até 0,5 Gy por todo o corpo pode ser considerada como um risco aceitável para salvar vidas enquanto uma dose de radiação de 8,0 Gy é quase sempre fatal (BUSHBERG, 2020).

Tabela 1 – Doses de radiação e risco de falência gonadal (Alto risco: > 80%; Risco leve: 20–80%; Baixo risco: < 20%)

Doses da radiação	Risco de insuficiência ovariana		
	Meninas pré-pubéres	15-40 anos	>40 anos
Irradiação pélvica/abdominal			
<6 Gy	Risco leve	Sem efeitos adversos	Sem efeitos adversos
15 Gy	Alto risco	Baixo risco	Risco leve
25-30 Gy	Alto risco	Risco leve	Alto risco
50-80 Gy	Alto risco	Risco leve	Alto risco
>80 Gy	Alto risco	Alto risco	Alto risco
Irradiação corporal total	Alto risco	Alto risco	Alto risco

Fonte: Adaptado de MARCI *et al.* (2018). Pacientes com idade inferior a quinze anos de idade submetidas a irradiações >6Gy apresentam alto risco de insuficiência ovariana comparadas a pacientes com idades entre 15-40 anos, que necessitam de radiação >80Gy para apresentarem alto risco.

Durante a radioterapia, o campo de radiação pode incluir tecidos saudáveis próximos ao tumor que são inevitavelmente expostos. Os efeitos determinísticos, que são dose-dependentes, correspondem ao comprometimento funcional de um tecido/órgão quando o limiar de radiação é excedido, como é caso da fertilidade prejudicada relacionada à função ovariana alterada. Embora em alguns tecidos o dano seja reversível, no ovário é progressivo e permanente (MARCI *et al.*, 2018).

Segundo o Comitê de Ética da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM) (2018), a quimioterapia e a radioterapia têm sido utilizadas com sucesso no tratamento de diversas neoplasias. O mecanismo de ação desses quimioterápicos e

radiações ionizantes é baseado principalmente na interrupção da síntese proteica e da maquinaria de reparo em células cancerígenas. Entretanto, esses tratamentos têm um impacto relevante no potencial reprodutivo. Assim, os procedimentos de preservação da fertilidade (PF) devem ser realizados principalmente antes desses tratamentos (ASRM, 2018, MARCI *et al.*, 2018).

4.2 Reprodução Humana alinhada a Oncologia

O principal foco para aqueles pacientes diagnosticados com câncer é, obviamente, o tratamento e a busca pela cura da doença. No entanto, dado o aumento do número de pacientes jovens submetidos à terapia anticâncer, os efeitos colaterais a longo prazo, incluindo a infertilidade, devem ser levados em consideração (MUÑOZ *et al.*, 2016). A perda da fertilidade pode ser traumática psicologicamente para as mulheres, pois grande parte deseja ser mães e anseia pelos filhos biológicos, e a preservação da fertilidade melhora a qualidade de vida no tratamento citotóxico trazendo esperança e perspectiva do futuro, considerada por Leonel, Lucci e Amorim (2019) uma extensão do tratamento do câncer.

A oncofertilidade é uma especialidade médica que reúne a oncologia e a medicina reprodutiva, oferecendo aos profissionais de saúde e aos pacientes a possibilidade de manter a fertilidade antes do tratamento oncológico (ASHIZAWA M; KANDA, 2020). Lambertini *et al.* (2018) explica que essa especialidade é necessária para informar aos pacientes sobre o possível desenvolvimento dos efeitos colaterais, além de ofertar o tratamento para a preservação da fertilidade. Tendo como principal objetivo o aumento do acesso dos pacientes ao aconselhamento sobre fertilidade e a sua preservação com o intuito de melhorar a qualidade de vida geral dos sobreviventes (RASHEDI *et al.*, 2020).

Existem no Brasil legislações específicas que conduzem a reprodução assistida, como a Resolução nº 2320/2022 de 16 de maio de 2022 do Conselho Federal de Medicina, o Código de Ética Médica e a Lei nº 11.105/05, denominada Lei de Biossegurança que considera o aumento da sobrevivência de pacientes acometidos pelas neoplasias malignas, possibilitando um planejamento reprodutivo antes de intervenções com risco de infertilidade. A lei dita que todo cidadão brasileiro tem o direito à informação e o uso das técnicas de reprodução para preservação da fertilidade e/ou ter um filho, isso inclui pacientes diagnosticados com câncer que

começaram o tratamento oncológico, impondo a equipe a informar os efeitos e sucessos desses métodos.

As preocupações com a infertilidade podem afetar diretamente as decisões com o tratamento, e mulheres em idade fértil expuseram que a possível perda da fertilidade é tão dolorida quanto enfrentar o próprio câncer (DESHPANDE; BRAUN; MEYER, 2015). Submetidas a angústia e falta de conhecimento sobre os tratamentos disponíveis para a PF e apreensões com os valores podem causar barreiras no processo de condução no momento do diagnóstico. Todavia, o aconselhamento para preservação da fertilidade evidencia reduzir significativamente o arrependimento e a insatisfação sobre a fertilidade em mulheres com câncer. Assim, a avaliação para preservação da fertilidade deve começar já no planejamento do tratamento do câncer (TAYLAN; OKTAY, 2019^a).

A ASCO e a ASRM lançaram diretrizes práticas para preservação da fertilidade em mulheres com câncer, que recomendam que as pacientes que recebem terapias potencialmente tóxicas para os órgãos reprodutivos, sejam informadas pelo médico sobre os possíveis efeitos adversos desses tratamentos sobre a fertilidade futura, bem como as opções disponíveis de preservação da fertilidade antes do início de tais tratamentos. Dessa forma, as pacientes que enfrentam o risco de infertilidade devido a tratamentos oncológicos planejados devem ser prontamente encaminhadas a um especialista em reprodução que seja particularmente experiente no campo da preservação da fertilidade (ASRM, 2018, OKTAY *et al.*, 2018).

O método escolhido para preservação da fertilidade deve englobar diversos fatores, como se a paciente possui um parceiro de longo prazo e se o tratamento pode ser adiado (MARCI *et al.*, 2018). Referente a escolha da metodologia de preservação utilizada, Aljaser (2020) diz que ela deve ser individualizada avaliando-se o risco de fertilidade para cada caso.

Benoit *et al.* (2020) expõem que a preservação da fertilidade abrange diversas técnicas que aumentam a probabilidade das sobreviventes se tornarem mães genéticas. Quando o procedimento ideal para determinada paciente é decidido, normalmente pode ser concluído dentro de duas a três semanas sem ocasionar atrasos no tratamento oncológico. Porém em casos em que a paciente necessita iniciar o tratamento imediatamente, existem opções como a criopreservação do tecido ovariano e autotransplante (TAYLAN; OKTAY, 2019^a). Além do exposto, as opções atuais também incluem a criopreservação de oócitos, a criopreservação de embriões,

a terapia com progesterona, o congelamento do tecido ovariano, além do aconselhamento sobre oncofertilidade (ALJASER, 2020).

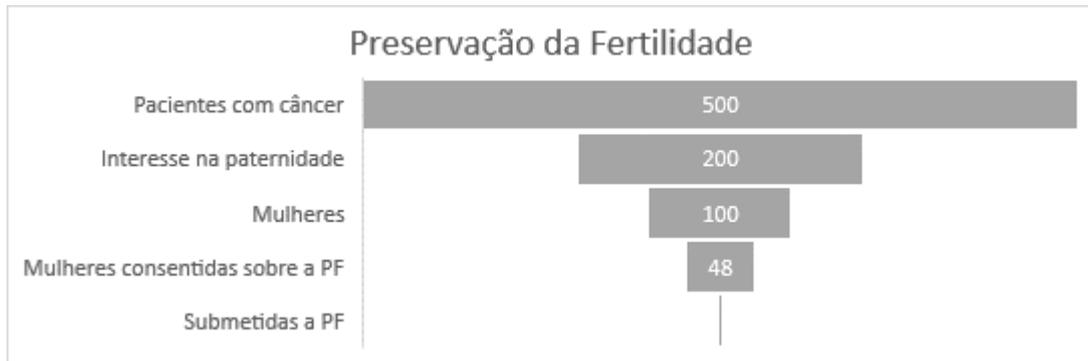
Kometas *et al.* (2021) estima que 50% das pacientes oncológicas esperam por conceber a gestação após o tratamento. Quando realizada de forma precoce, maior será a probabilidade de sucesso da preservação da fertilidade. Sendo essa preservação antes do tratamento frequentemente possível, maior será a capacidade de manter ou recuperar a fertilidade após o término do tratamento (ASSIS *et al.*, 2022).

A preservação da fertilidade requer uma equipe multidisciplinar, construída através de uma relação de colaboração entre oncologistas, embriologistas, psicólogos e médicos de cuidados primários para oferecer as melhores opções e recomendações para esses pacientes (MARCI *et al.*, 2018). Embora tradicionalmente os oncologistas estejam focados em fornecer os mais eficazes tratamentos contra o câncer e prolongar a vida do paciente, deve-se enfatizar que a saúde reprodutiva é essencial para a qualidade de vida e tornou-se ainda mais necessária com as crescentes taxas e sobrevivência ao câncer nas últimas décadas (TAYLAN; OKTAY, 2019b).

Tais taxas de sobrevivência são mais altas em pacientes com idade entre 15 e 44 anos, com sobrevivência em 5 anos variando de 60 a 82% de acordo com a idade, local do tumor e país de tratamento. Entre estes, a infertilidade pode afetar até 80% dos sobreviventes do câncer como resultado de tratamentos (LINKEVICIUTE *et al.*, 2014). Marci *et al.* (2018) relata que cerca de 70-75% das jovens sobreviventes de câncer estão interessadas na maternidade, mas a porcentagem de pacientes que se submetem às técnicas de preservação da fertilidade antes ou durante o tratamento de câncer é significativamente menor.

Por exemplo, é relatado que apenas 40% dos pacientes com câncer, que possuíam interesse na paternidade, foram submetidos à preservação da fertilidade. Como verificado na figura 4, os resultados revelam grande discrepância de gênero nas informações recebidas sobre o impacto do tratamento na fertilidade, com 80% dos homens e 48% das mulheres informadas. Enquanto 54% dos pacientes do sexo masculino armazenaram esperma congelado, apenas 2% das mulheres foram submetidas à preservação da fertilidade (GEUE *et al.*, 2014).

Figura 04 – Pacientes com câncer que possuíam interesse na paternidade que foram submetidos à preservação da fertilidade



Fonte: Geue *et al.*, 2014. Conclui-se que em 500 pacientes com câncer, 40% desses possuem interesse na maternidade. Supondo que metade se trata de mulheres, somente 48% dessas são informadas sobre as técnicas de preservação da fertilidade e somente 1 é submetida ao processo.

Conforme Melo *et al.* (2019) a orientação sobre a fertilidade está cheia de lacunas. Realizando assim, uma pesquisa no Centro de Fertilidade de Ribeirão Preto (CEFERP), em parceria a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), com o objetivo elaborar um fluxograma prático para uma abordagem holística da fertilidade para mulheres com câncer, incluindo preservação da fertilidade e contracepção. Tendo como foco principal uma comunicação interdisciplinar com agilidade e a disponibilidade de exames complementares para uma abordagem integral da saúde reprodutiva dos portadores de câncer. Proporcionando segurança, autonomia e a inclusão das pacientes em seu processo de planejamento reprodutivo.

Há relatos de mulheres que recusam o tratamento para câncer por medo de se tornar infértil, por essa e outras razões os pacientes com câncer devem ser rotineiramente questionados sobre seu interesse em preservar a fertilidade antes de iniciar o tratamento para benefícios clínicos e psicológicos (LINKEVICIUTE *et al.*, 2014).

Um estudo recente de Mattei *et al.* (2021) onde foi apresentada para as pacientes sobre a possibilidade de PF, verificou-se que dentro de 58 mulheres com diagnóstico recente de câncer, com idade entre 20 e 42 anos, praticamente metade (46,8%) apresentaram uma alta motivação para se submeter a preservação da fertilidade. Considerando que um forte desejo pela maternidade prevê uma alta motivação para preservar a fertilidade, é um fator crucial a apresentação dessa possibilidade para que ocorra a preservação da fertilidade antes do tratamento do câncer.

4.3 Preservação da fertilidade

Certamente receber as informações pertinentes é necessário para que as pacientes possam escolher a melhor intervenção para preservação da sua fertilidade. No caso de menores de 18 anos de idade, o responsável legal é quem deve ser informado e tomar essa decisão. Diretrizes nacionais e internacionais destacam a importância de se discutir os riscos e opções no início do tratamento, entretanto pesquisas identificam que sobreviventes de câncer não se recordam de seu médico fornecendo essa informação sobre o risco da fertilidade (LOGAN *et al.*, 2017).

Houve um aumento significativo em tecnologias efetivas de reprodução assistida (RA), principalmente por razões sociais como a preservação antes da terapia anticancerígena citotóxica (BOSCH *et al.*, 2020). A criopreservação está entre os principais métodos de preservação da fertilidade à disposição e consistem na criopreservação de embriões, oócitos e tecido ovariano. O primeiro passo para o congelamento de oócitos e embriões é a estimulação ovariana controlada (CAVAGNA; DZIK; MIKLOS, 2017).

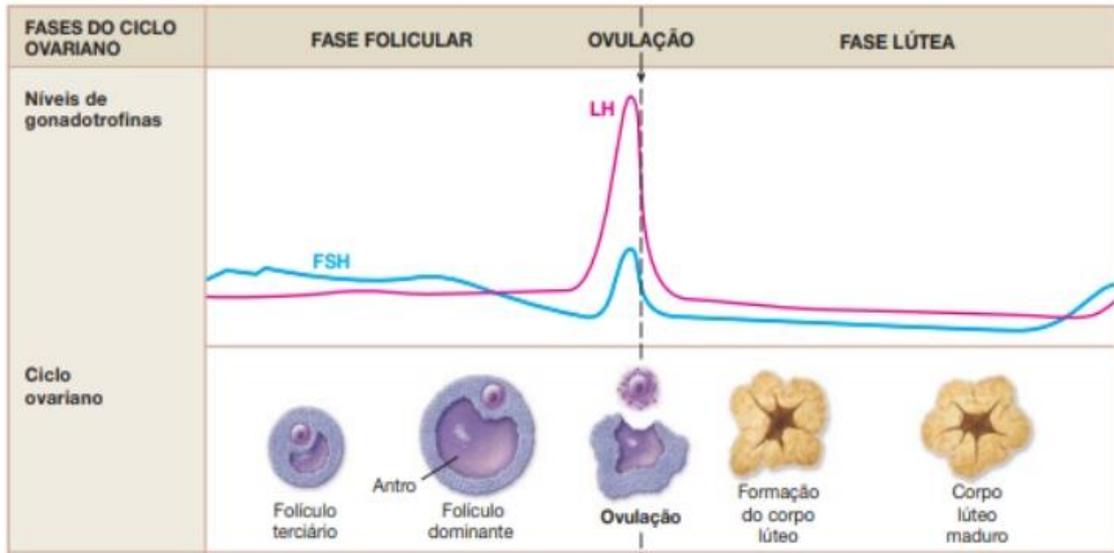
A reprodução humana assistida necessita que haja um tempo hábil para que a mulher seja submetida à estimulação hormonal e recuperação do oócitos, que geralmente se estende por um período de duas semanas (COLMORN *et al.*, 2021). O protocolo de estimulação ovariana para criopreservação reprodutiva precisa ser seguro, conveniente e alcançar a resposta ovariana máxima. Isso é particularmente importante para mulheres que têm apenas uma chance de criopreservar seus oócitos, por exemplo, antes da quimioterapia do câncer (BOSCH; VOS; HUMAIDAN, 2020).

A estimulação controlada com gonadotrofinas é uma etapa essencial e os protocolos de estimulação ovariana variam para cada paciente, sendo estipulado com base na necessidade e características individuais. Entretanto, todos tem como objetivo principal a indução hormonal do crescimento folicular e normalmente são realizados por injeções de gonadotrofina por pelo menos 12 dias para apoiar o crescimento folicular múltiplo em associação com exames de ultrassom e avaliações de biomarcadores hormonais (SILVESTRES *et al.*, 2021).

Os principais hormônios gonadotróficos induzidos são o Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e o Hormônio Luteinizante (LH). O FSH estimula a secreção de estrógeno (que é responsável pelo desenvolvimento e maturação dos folículos), enquanto a função do LH é estimular a ovulação (liberar o oócito, pelo folículo ovariano). O LH e FSH, então, estimulam os ovários, resultando no crescimento dos

folículos e na ovulação (FIGURA 5). Garantindo que um número adequado de oócitos esteja disponível para criar embriões de alta qualidade maximizando o sucesso de maneira segura (HOWIE; KAY, 2018).

Figura 05 - Ciclo Menstrual



Fonte: Adaptado de Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada, 7ª Edição, 2017. A função do ciclo menstrual normal pode ser dividida em fase folicular e fase lútea, sendo classificadas como antes da ovulação e depois da ovulação, respectivamente.

São atribuídas algumas fases específicas para a estimulação ovariana, sendo a estimulação ovariana controlada, o bloqueio hipofisário do pico ovulatório e a indução da ovulação (trigger). Os protocolos são divididos de acordo com a fase do ciclo, determinados a partir do teste de reserva ovariana e duram cerca de 8-12 dias. São utilizados diversos medicamentos para atender esses objetivos, conforme quadro 2, sendo determinado o melhor protocolo de forma individualizada com base em um conjunto de dados da paciente, alinhando com suas expectativas e planejamento (BORGES JÚNIOR; BRAGA; SETTI, 2020; FREITAS *et al.*, 2021).

Quadro 01 – Etapas da estimulação ovariana (cont.)

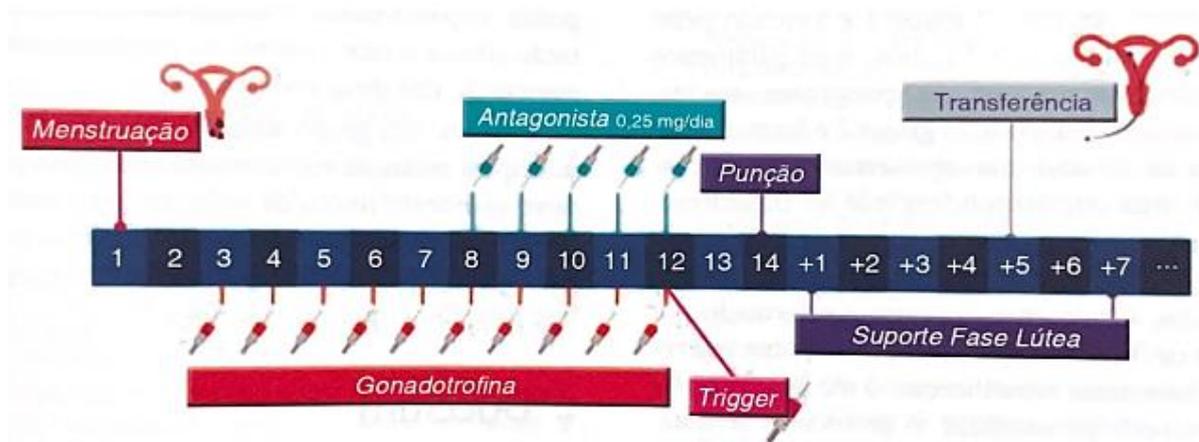
FASES	OBJETIVO	PRINCIPAIS MEDICAMENTOS
Estímulo Ovariano Controlado	Estimulam o crescimento folicular, com a particularidade do maior recrutamento folicular possível	Citrato de clomifeno, Letrozol e Gonadotrofinas

FASES	OBJETIVO	PRINCIPAIS MEDICAMENTOS
Bloqueio Hipofisário	Bloqueio hipofisário para que não ocorra uma ovulação antes da data programada da captura oocitária, evitando pico prematuro de LH	Análogo agonista de GnRH, Análogo antagonista de GnRH e Progesterona
Trigger	Gatilho da ovulação, deflagração da maturação oocitária final	Principalmente a Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG)

Fonte: Baseado Borges Júnior, Braga e Setti, 2020. O objetivo da estimulação ovariana é mimetizar um ciclo menstrual, após a fase de estímulo do crescimento folicular e do bloqueio da ovulação, ocorre a deflagração da maturação oocitária final para que os óvulos possam ser captados, fertilizados e/ou criopreservados.

A seguir, a figura 6 apresenta um esquema gráfico de um dos principais protocolos de estimulação, utilizando gonadotrofinas como estímulo ovariano controlado e o antagonista de GnRH como bloqueio hipofisário. Ressaltando que as doses e medicamentos a serem utilizados variam de acordo com peso, idade, reserva ovariana, exames laboratoriais, contagem dos folículos antrais e valor do antimulleriano da paciente. Defendendo uma estimulação ovariana personalizada e que cada caso deve ser discutido diretamente com um médico especialista sobre sua complexidade e estratégias (BORGES JÚNIOR; BRAGA; SETTI, 2020)

Figura 06 – Protocolo com bloqueio hipofisário curto com antagonista de GnRH



Fonte: Baseado Júnior, Braga e Setti, 2020. A estimulação com gonadotrofinas se inicia no 3º dia da menstruação e perdura até cerca de 36 horas antes da punção, quando se aplica o trigger. Agora o antagonista é administrado no 8º dia do ciclo menstrual, que corresponde ao 6º dia da medicação.

Utilizando alguns casos rotineiros como exemplo, Freitas *et al.* (2021) discorre que:

Pacientes em fase folicular tardia, com a presença de um folículo dominante, tem o tratamento baseado na urgência do início do tratamento gonadotóxico, geralmente com 75UI de gonadotropinas e com concomitante terapia com inibidor de aromatase (Letrozol), que gera diminuição dos níveis de estradiol, e Tamoxifeno, para desencadear a oocitação. Já na Fase Lútea é administrado o antagonista de gonadotrofina, para prevenir síndrome de hiperestimulação ovariana, e posteriormente se inicia a aplicação de FSH e Letrozol (FREITAS *et al.*, 2019, p. 15584).

Pacientes oncológicos que necessitam de intervenção médica imediata podem apresentar algumas preocupações, já que a estimulação ovariana leva cerca de algumas semanas. Resultando no atraso do início do tratamento e no potencial risco do desenvolvimento de hiperestimulação ovariana, além da possibilidade de interação dos componentes com receptores hormonais que podem estar presentes em alguns cânceres (FLEURY *et al.*, 2018).

Esses pacientes podem recorrer a estimulação de início aleatório, que se tornou uma abordagem bem estabelecida, já que pode ser iniciada de forma independente do ciclo menstrual (CAVAGNA *et al.*, 2018). Além da opção da preservação do tecido ovariano, já que essa técnica apresenta a vantagem de não necessitar da estimulação ovariana (FLEURY *et al.*, 2018).

5 CRIOPRESERVAÇÃO

Avanços nos protocolos de estimulação ovariana trouxeram a necessidade de métodos de criopreservação para que embriões formados e excedentes pudessem ser congelados de forma eficiente. Recentemente, as normas deontológicas que regulamentam as técnicas de reprodução humana assistida no Brasil foram atualizadas pelo Conselho Federal de Medicina através da Resolução nº 2320/2022, na data de 20 de setembro de 2022. Não há nenhuma lei específica sobre a criopreservação no Brasil, entretanto, essa resolução estabelece que as técnicas de RA têm o papel de auxiliar no processo de procriação humana, podendo ser utilizadas para a preservação de gametas, embriões e tecidos germinativos.

Além disso, essa mesma resolução aponta que o número total de embriões gerados em laboratório não é mais limitado, devendo os pacientes, em comunhão com a equipe médica, decidir sobre quantos serão transferidos a fresco e que os excedentes devem ser criopreservados, revogando a resolução anterior que limitava o congelamento para apenas 8 embriões. Vale também mencionar que essa nova resolução descarta a necessidade de autorização judicial para descarte de embriões, não estabelecendo critérios ou proibição para o descarte de embriões, mas cita a Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005 (Lei de Biossegurança).

Na mais recente publicação da Rede Latino-Americana de Reprodução Humana Assistida com dados informativos de 2014, 100% das clínicas no Brasil oferecem a técnica de criopreservação. Proporcionando aos pacientes uma oportunidade adicional de concepção, já que mesmo com uma única estimulação ovariana há a possibilidade do congelamento do material excedente. No Brasil já foram realizadas mais de 13 mil transferências de embriões congelados (DONADIO *et al.*, 2021).

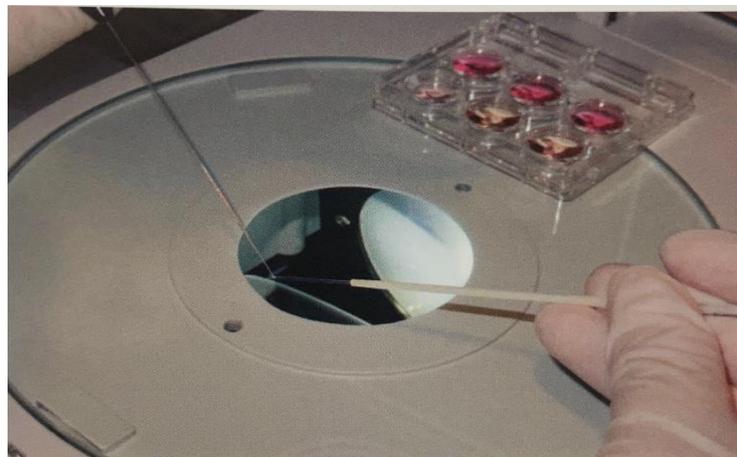
A demanda por preservação da fertilidade por indicações oncológicas, bem como por motivos pessoais e outros, aumentou substancialmente. A criopreservação pelo método lento era amplamente utilizada, e consistia no congelamento do meio que leva a desidratação da célula de maneira equilibrada. Entretanto, o grande tempo de exposição aos crioprotetores no processo de desidratação, desenvolvido para evitar o congelamento intracelular, ocasionava efeitos citotóxicos com a formações de cristais de gelo (FREITAS *et al.*, 2021).

Atualmente, praticamente 100% dos embriões são congelados através do método de vitrificação. Nela há a transformação de uma solução líquida em uma solução vítrea sem a formação de gelo, e isso ocorre devido a rápida queda na temperatura (DONADIO *et al.*, 2021). Portanto, esse novo método trouxe benefícios que não havia no método de congelamento lento, como menor fraturas da membrana pelúcida e um menor risco de dano celular devido a maior concentração de crioprotetores e rápida queda da temperatura (FREITAS *et al.*, 2021).

Além disso, a criopreservação pela técnica de vitrificação apresenta taxas de sobrevivência celular maiores quando comparadas aos protocolos de congelamento lento (FREITAS *et al.*, 2021). Esse método apresenta taxas de sobrevivência esperadas acima de 90%, o estudo de Cobo *et al.* incluiu 1.172 ciclos de vitrificação, onde a taxa de sobrevivência do material biológico fora de 81,2% a 91,4% pareando os grupos por idade. Agora o congelamento lento apresenta uma taxa de sobrevivência de aproximadamente 60%, por exemplo, em um estudo randomizado, a taxa de criosobrevivência de oócito MII com o congelamento lento foi 66,1% versus 82,3% com vitrificação (RIENZI *et al.*, 2016).

A técnica considerada clássica para a preservação de gametas é o congelamento lento, porém a taxa de sucesso com vitrificação se mostrou superior. Por essa razão, Rienzi *et al.* (2016) ressalta que laboratórios em todo o mundo substituíram completamente o congelamento lento pela vitrificação (FIGURA 7) visando melhorar a taxa de criosobrevivência de ~60% usando congelamento lento para a taxa de ~78-100% usando vitrificação.

Figura 07 – Inserção do embrião na palheta no processo de vitrificação



Fonte Donadio *et al.*, 2021. Essa técnica necessita de uma rápida queda na temperatura, e as condições ideais para que isso aconteça são as palhetas possuírem pequeno diâmetro e paredes

finas para serem mergulhadas diretamente no nitrogênio líquido, além de colocar os embriões com o menor volume possível.

Com isso, a implementação da vitrificação transformou a forma como se realiza a fertilização in vitro, fazendo com que a prática de congelar oócitos e embriões de boa qualidade aumentasse drasticamente nos últimos anos. Subsequentemente sendo realizada a transferência embrionária somente no momento mais apropriado por questões médicas ou conveniência, tanto que as indicações para criopreservar todos os oócitos/embriões obtidos também aumentaram (BOSCH; VOS; HUMAIDAN, 2020; NAGY; SHAPIRO; CHANG, 2020).

5.1 Protocolo de Congelamento Lento e Vitrificação

O congelamento lento perdeu seu espaço nas últimas décadas para dar lugar a vitrificação, entretanto foi considerado um método tradicional amplamente empregado nos centros de Reprodução Humana Assistida. Esse método utiliza de equipamentos específicos que possibilitam a programação da velocidade da redução da temperatura (Figuras 8), onde programa-se um resfriamento lento em rampa (-0,1 ou -0,3°C/min), com o uso de concentrações de crioprotetores baixas, com o objetivo de evitar danos osmóticos e tóxicos em maior proporção (LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019; NAGY; SHAPIRO; CHANG, 2020).

Figura 08 – Equipamento de Congelamento Lento

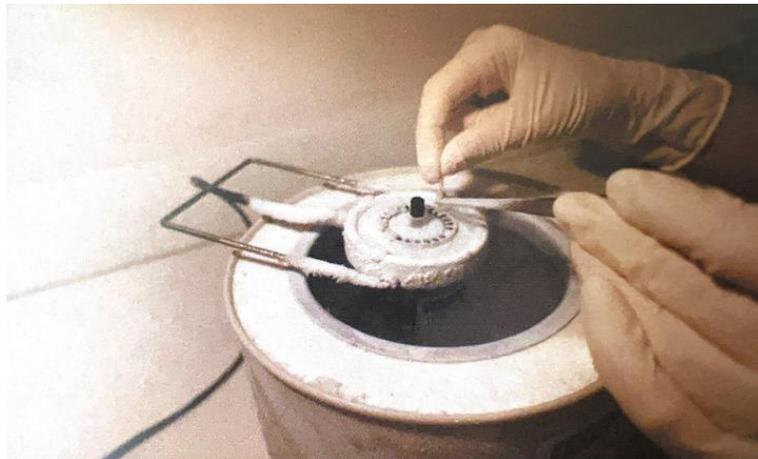


Fonte: UFRGS (2022). Para o método do congelamento lento necessita de equipamentos específicos para programar a queda da temperatura de forma gradativa, na imagem verifica-se a Máquina Planer utilizada para esse fim.

Para que seja possível entendê-la melhor, a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, 2022) explica o protocolo que utiliza o 1,2-propanodiol (PROH) como crioprotetor, sendo esse o mais difundido e empregado. Os principais materiais necessários são o Kit de Congelamento Lento que contém soluções de concentrações crescentes, a máquina de criopreservação, microscópio, pipetas e palhetas. Além disso, utiliza-se pinças, cronômetros, seringas e o nitrogênio líquido.

Sobre o descrito pela UFRGS se destaca que o embrião/oócito é exposto a concentrações crescentes do crioprotetor e na maior concentração são aspirados com o auxílio de uma seringa para o interior de uma palheta e transferidos para a câmara do equipamento de congelamento lento (UFRGS, 2022). Esse é automatizado para o resfriamento até a temperatura do nitrogênio líquido de -196°C , onde a queda ocorre gradativamente até o momento de uma pausa conhecida como *seeding* (figura 9), sendo essa necessária para, por exemplo, a indução da formação de cristais de gelo. A seguir, a temperatura continua a cair lentamente ($0,3^{\circ}\text{C}/\text{min}$) até uma temperatura pré-determinada após a qual ela cai mais bruscamente até atingir -180°C . Neste momento, remove-se do aparelho e são imersas no nitrogênio líquido (-196°C).

Figura 09 – Indução da formação de gele *seeding* pelo método lento



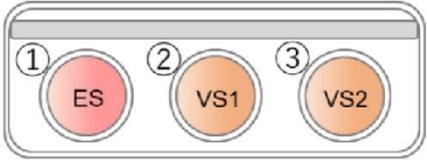
Fonte: Donadio *et al.*, 2021. O *seeding* consiste em uma indução manual da cristalização, esse procedimento é realizado tocando-se o criotubo com ponta de uma pinça envolta com algodão e embebida em nitrogênio líquido. Sendo importante para evitar danos como o resfriamento excessivo e a desidratação celular intensa.

Já a vitrificação permite que a amostra seja preservada em um estado semelhante ao vidro sem a necessidade de equipamentos caros, e tornaram a vitrificação uma alternativa promissora ao congelamento lento. Entende-se por

vitrificação a solidificação a uma temperatura abaixo da temperatura de transição vítrea da solução por extrema elevação da viscosidade, onde as células e tecidos são colocadas em contato direto com altas concentrações de crioprotetores e em seguida ao nitrogênio líquido cerca de -196°C . Existem diversos protocolos de vitrificação, variando conforme o fabricante, no entanto todos são muito similares utilizando duas soluções distintas: *equilibration solution* (ES) e *vitrification solution* (VS) (KOMETAS et al., 2021; NAGY et al., 2020; et al., 2021).

Seguindo o Protocolo da Cryotech Vitrication, esse atinge taxas de sobrevivência de 99,9 %, é utilizado o mesmo protocolo para oócitos, embriões e blastocistos, o que aumenta muito a facilidade de uso para os embriologistas, e o protocolo é dividido somente em três etapas principais, conforme figura 10. Os materiais necessários são o Kit de Vitrificação (ES, VS, placa dos meios e palheta), microscópio e a Stripper ou pipeta Pasteur com sistema de boca. Além disso, utiliza-se pinças, cronômetros, tesouras e o nitrogênio líquido (CRYOTECH, 2022).

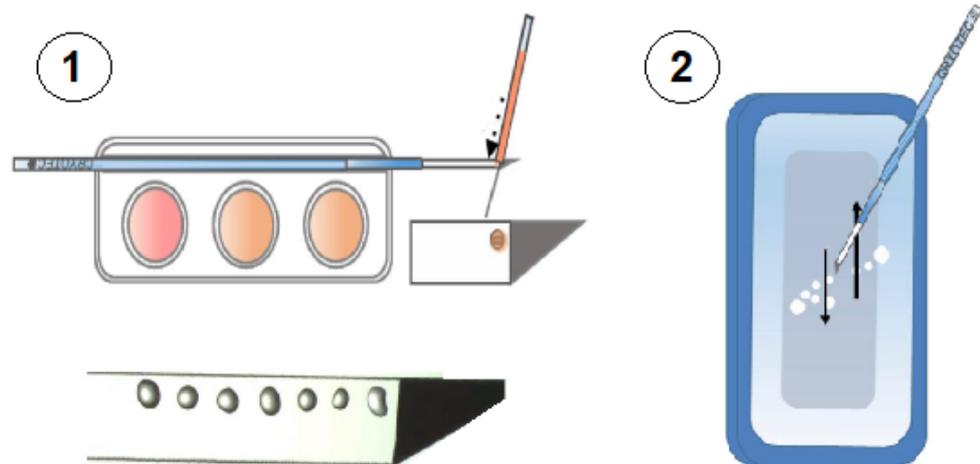
Figura 10 – Três etapas da vitrificação pelo protocolo Cryotech

FIGURA	PROCEDIMENTO
	<p>1 - Solução de Equilíbrio (ES): o objetivo dessa etapa é introduzir agentes criopreservantes dentro da célula. Esse processo leva cerca de 15 minutos para embriões e oócitos, e ocorre através da diferença osmótica entre o meio intracelular e o meio extracelular até o equilíbrio.</p> <p>2 - Solução de Vitrificação (VS): seu objetivo é substituir o ES intracelular pelo VS. Verifica-se que o processo está completo quando a densidade da célula e do meio estão iguais e o tempo necessário é entre 30-60 segundos.</p> <p>3 - Solução de Vitrificação (VS): novamente utilizado para certificar-se que houve a completa substituição do ES pelo VS. Verifica-se que o processo está completo quando o embrião/oócito encolhem por completo e o tempo necessário é entre 10-20 segundos.</p>

Fonte: Adaptado de Cryotech, 2022. Utiliza-se a placa de vitrificação da Cryotech com 3 poços, um para cada solução utilizada.

Após submeter o oócito/embrião nas soluções, esse deverá ser submerso em nitrogênio líquido através das palhetas. Assim, após sua aspiração junto a solução VS, deposita-se em gotas na palheta e mergulha essa imediatamente no nitrogênio líquido, mexendo-a para o ultra-rápido congelamento (figura 11).

Figura 11 – Processo de vitrificação pelo protocolo Cryotech



Fonte: Adaptado de Cryotech, 2022. 1 - São inseridos os embriões/oócitos em gotas no início das palhetas, próximo ao triângulo na base. 2- É mergulhado as palhetas no nitrogênio líquido à -196°C , mantendo posicionado até não haver mais formações de bolhas.

6 PRINCIPAIS OPÇÕES DE CRIOPRESERVAÇÃO

É inegável e promissora a melhora da sobrevida em pacientes jovens com neoplasias, e grande parte dessas encontra-se em idade reprodutiva. No Brasil, cerca de 10% dos cânceres nas mulheres ocorrem antes dos 40 anos (BORGES JÚNIOR; BRAGA; SETTI, 2020). Nesse sentido, a demanda por preservação da fertilidade para pacientes com câncer infantil, adolescente e adultos aumentou muito apesar de apenas uma pequena parte dos pacientes jovens com câncer receberem serviços de preservação da fertilidade (HARADA; OSUGA, 2018).

A evolução das tecnologias de reprodução assistida (ART) facilitou o desenvolvimento de métodos e estratégias para preservar a fertilidade em pacientes com câncer (FISCH; ABIR, 2018). Várias opções de preservação da fertilidade, desde estratégias de rotina até estratégias experimentais, estão agora disponíveis para diminuir o risco de infertilidade relacionado ao tratamento (SILVESTRES, 2020).

Portanto, o aconselhamento multidisciplinar entre diferentes especialistas pode, assim, ser funcional no manejo de pacientes oncológicas, a fim de preservar e restaurar sua fertilidade antes dos tratamentos gonadotóxicos e após sua conclusão, respectivamente. As principais opções disponíveis, devem ser estudadas entre a paciente e o especialista, analisando cada caso e verificando as circunstâncias (SILVESTRES, 2020).

A criopreservação de embriões, criopreservação de oócitos maduros e criopreservação de tecido ovariano são todas abordagens de preservação da fertilidade apresentadas pela Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM, 2018). Enquanto para adultos e meninas pós-púberes a criopreservação de oócitos ou embriões é um método estabelecido, para as meninas pré-púberes a criopreservação de tecido ovariano é a única opção (HARADA; OSUGA, 2018).

É verificado no Quadro 3 que a criopreservação de oócitos é uma alternativa viável que não necessita de um parceiro, enquanto a criopreservação de embriões há a necessidade de um parceiro, mas os embriões apresentam uma menor sensibilidade ao processo de criopreservação quando comparado aos oócitos. Além disso, ambas necessitam da estimulação ovariana controlada que pode levar a atrasos nos tratamentos oncológicos.

Já a criopreservação do tecido ovariano tem sido considerada uma das técnicas mais promissoras, visto que não é necessário passar pela estimulação ovariana para a coleta. Apesar de ser um procedimento invasivo, é uma técnica que, além de restaurar a fertilidade, apresenta altas taxas de restauração da função endócrina, permitindo uma gestação sem a necessidade da fertilização *in vitro*.

Quadro 3 - Comparativos entre os métodos de criopreservação de acordo com sua aplicabilidade em pacientes oncológicas

TÉCNICAS	CRIOPRESERVAÇÃO DE EMBRIÕES	CRIOPRESERVAÇÃO DE OÓCITOS	CRIOPRESERVAÇÃO DE TECIDO OVARIANO
VANTAGENS	<ul style="list-style-type: none"> - Procedimento menos invasivo para captação de oócito. - Maior resistência aos processos de criopreservação - Melhores taxas de implantação 	<ul style="list-style-type: none"> - Procedimento menos invasivo para captação de oócito. - Não precisa de uma FIV imediata, não necessitando de espermatozoide - Menores questões morais, religiosas e judiciais 	<ul style="list-style-type: none"> - Não necessidade de EOC - Pode ser realizado a qualquer momento do ciclo menstrual - Permite a captação de um grande pool de folículos - Não precisa de uma FIV imediata, não necessitando de espermatozoide - Pode restaurar a função hormonal após reimplantado
DESVANTAGENS	<ul style="list-style-type: none"> - Necessita de EOC - Necessita de espermatozoide 	<ul style="list-style-type: none"> - Necessita de EOC - Maior sensibilidade aos processos de criopreservação 	<ul style="list-style-type: none"> - Procedimento invasivo - Risco para as pacientes com idade avançada - Risco de retransplante de células cancerígenas

Fonte: Adaptado de Freitas *et al.*, 2021. Uma vez tomada a decisão de criopreservar, deve-se explorar os benefícios e riscos das tecnologias efetivas da reprodução assistida.

6.1 Criopreservação de Embriões

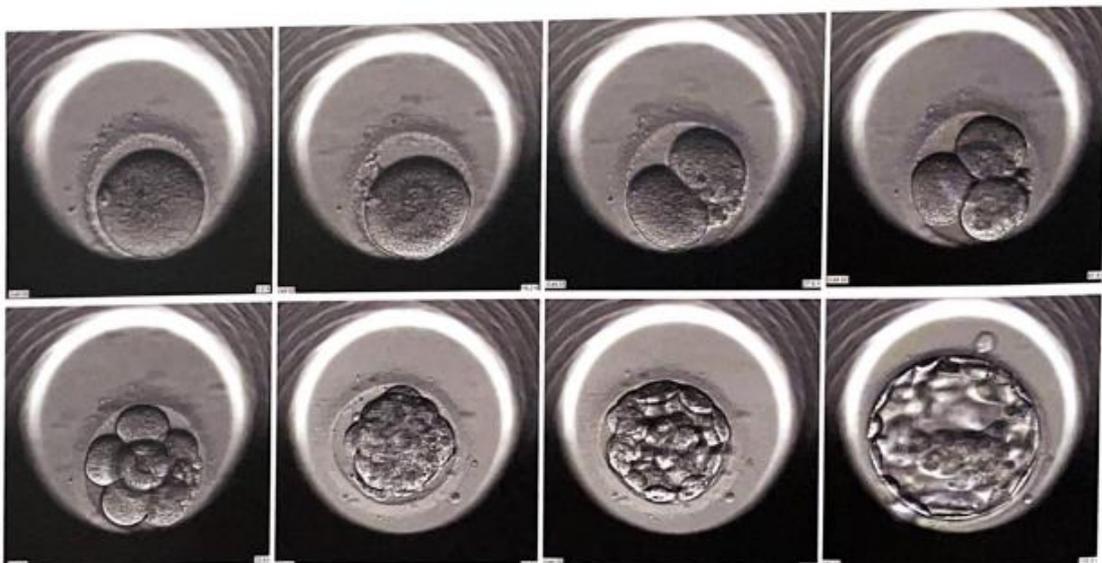
A primeira gravidez humana de um embrião congelado e descongelado foi relatada em 1983 e o primeiro nascimento vivo em 1984, sendo a criopreservação de embriões uma técnica situada e com evidências de estudos observacionais de que as taxas de gravidez se apresentam maiores em embriões congelados-descongelados do que quando são usados embriões provenientes de oócitos congelados (BOSCH; VOS; HUMAIDAN, 2020).

Para a criopreservação dos embriões, primeiramente ocorre a estimulação ovariana controlada para a realização da posterior punção folicular. Os oócitos puncionados são submetidos a técnica de fertilização *in vitro* indicada pelo médico, formando-se então os embriões. Esses são vitrificados em nitrogênio líquido a -196°C , permanecendo assim por tempo indeterminado até a transferência embrionária (IPGO, 2019).

Esse procedimento apresenta uma taxa de 95% de sobrevivência, sendo muito eficaz e considerado por muito tempo a única técnica bem estabelecida para a preservação da fertilidade. Entretanto possui algumas limitações, como a necessidade de um parceiro pré-existente ou doação de espermatozoides, a possibilidade de separação do casal e da evolução da doença, já que leva o adiamento do tratamento oncológico devido a necessidade de um tempo hábil para a estimulação com gonadotrofinas (FREITAS *et al.*, 2021; BORGES JÚNIOR; BRAGA; SETTI, 2020)

A vitrificação do embrião pode ocorrer em diferentes estágios do desenvolvimento embrionário, desde o estágio de zigoto (dia 1), como no estágio de clivagem (dia 2/3) e no estágio de mórula (dia 4). Conforme Donatio *et al.*, diferente do oócito que é apenas uma célula, o blastocisto humano possui mais de 60 células no quinto dia, e cerca de 120 no sexto dia, tendo uma divisão celular exponencial como verificado na figura 12, sendo mais eficiente para o método de criopreservação, além de ser a mais vantajosa para o paciente devido ao momento da transferência embrionária (NAGY; SHAPIRO; CHANG, 2020).

Figura 12 – Acompanhamento do desenvolvimento embrionário pelo sistema de Time Lapse



Fonte: Donadio *et al.*, 2021. O embrião pode ser congelado em todos seus estágios, podendo ocorrer uma seleção embrionária de acordo com as características morfológicas e o seu desenvolvimento. A última imagem refere-se ao estágio de blastocisto, sendo esse o mais comumente utilizado, já que permite uma observação por mais tempo e conseqüentemente proporciona o congelamento apenas daqueles embriões evolutivos.

Ponderando a Resolução CFM 2013/2013 em vigor, os embriões são considerados seres vivos pelos valores éticos e legais, e por essa razão só podem ser descartados após 5 anos se essa for a vontade do casal. Um fato que pode gerar desacordos quer em caso de divórcio, doenças graves ou falecimento de um deles ou de ambos, e quando desejam doá-los. Enquanto a criopreservação de oócitos e tecido ovariano não apresentam o compromisso legal desta resolução.

6.2 Criopreservação de Oócitos

A vitrificação de oócito está entre as tecnologias mais importantes na preservação da fertilidade em pacientes jovens que serão submetidas a tratamentos oncológicos, devido às suas vantagens e altas taxas de sobrevivência oocitária, implantação e gravidez. Essa permite a preservação da fertilidade independentemente da necessidade de haver um parceiro na ocasião do tratamento, expandindo o número de candidatas, já que tendem evitar as objeções morais ou restrições legais aplicadas à criopreservação de embriões, sendo uma técnica consolidada que previne o declínio da fertilidade de mulheres em risco de perder a função ovariana, como pacientes com câncer (BOSCH; VOS; HUMAIDAN, 2020; COBO *et al.*, 2021).

O primeiro nascimento por meio dessa tecnologia foi relatado em 1999, consistindo na estimulação ovariana para que ocorra o crescimento dos folículos e maturação dos oócitos e a retirada por punção guiada por ultrassom transvaginal. Diferente da criopreservação de embrião, os oócitos coletados não são fertilizados, sendo submetidos diretamente à vitrificação. E vale ressaltar que para ambos os casos, a paciente em questão já deve ter passado pela menarca, caso contrário, não se obtém a resposta aos estímulos e conseqüentemente, não haverá oócitos maturados (COBO *et al.*, 2021; IPGO, 2019).

Os oócitos (Figura 13) são células sensíveis às baixas temperaturas e possuem um alto teor de água para uma baixa área de superfície, além da diferença de permeabilidade e a presença de membrana. Essas são características que fazem com

que a criopreservação seja um desafio e podem gerar menores taxas de sobrevivência celular quando comparadas à criopreservação de embriões. Os cromossomos oocitários encontram-se alinhados no centro dos fusos de divisão meiótica nessa etapa, sendo a preservação desses fusos a principal dificuldade da criopreservação dessas estruturas. A formação de cristais de gelo pode ocasionar despolimerização dos microtúbulos e dos cromossomas e esses estão envolvidos em funções essenciais para a sequência de eventos que levam ao término da meiose e fertilização o que pode resultar em aneuploidias, mas ainda é um procedimento estabelecido na reprodução humana assistida (FREITAS *et al.*, 2021; BORGES JÚNIOR; BRAGA; SETTI, 2020)

Figura 13 – Oócito MII



Fonte: Borges Júnior, Braga e Setti, 2020. O oócito em metáfase II é referido como maduro.

Sendo esse o oócito inseminado e/ou criopreservado

7 TECIDO OVARIANO

Após a criopreservação de embriões e de oócitos, a técnica de criopreservação e o autotransplante do tecido ovariano é a terceira técnica mais aplicada na atualidade (RIVAS *et al*, 2019). Oferecida para as meninas pré-púberes e mulheres com alto risco de desenvolver insuficiência ovariana prematura, sendo a terapia gonadotóxica a causa mais frequente para desenvolver essa afecção durante o tratamento contra o câncer. É indicado, principalmente, para aquelas que o tratamento não pode ser adiado, como também para pacientes que não obtiveram sucesso no tratamento de fertilização in vitro, e foi decidido aumentar sua reserva ovariana com o transplante futuro de tecido ovariano (DOLMANS *et al.*, 2021; GJETERUD; KRISTENSEN; FEDDER, 2021).

Martinez *et al.* (2017) relata que até o ano de 2013 havia somente um caso de nascido vivo após o transplante do tecido ovariano preservado. Mas dentro dos próximos anos ocorreu uma série de 111 casos, com uma taxa de 29% de concepção, o que comprovou a eficácia da técnica.

A criopreservação do tecido ovariano (CTO) com o seu posterior transplante apresenta muitos benefícios e pode ser a melhor opção apresentada em diversos casos. Não necessita da estimulação ovariana, o processo cirúrgico pode ser imediato e preserva centenas de folículos primordiais simultaneamente, o que pode restaurar a fertilidade a longo prazo e evita a repetição de ciclos de fertilização in vitro para conseguir as gestações. Outras vantagens relacionadas é a não necessidade de espermatozoides, a possibilidade do restabelecimento hormonal e proteção da menopausa prematura (FREITAS *et al.*, 2021; KOMETAS *et al.*, 2021).

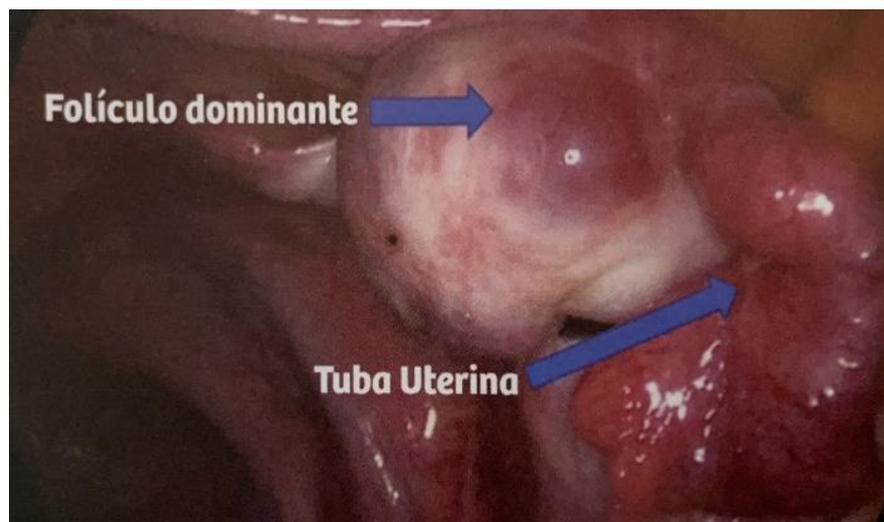
A Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva aceitou a criopreservação de tecido ovariano como um tratamento clinicamente estabelecido em dezembro de 2019. No passado, a maior limitação era o desenvolvimento de uma técnica que mantivesse as características morfológicas e germinativas do tecido ovariano, e atualmente o maior objetivo da CTO é justamente a manutenção da estrutura e fisiologia ovariana (ASRM, 2018, LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019).

Inicialmente foi proposta para salvaguardar a fertilidade de meninas e pacientes que não poderiam adiar o tratamento, mas o sucesso da técnica fez com que ela fosse aplicada ao redor de todo mundo em pacientes com patologias malignas ou não malignas (LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019). Mas conforme é discutido Gjeterud,

É ainda na gestação que os folículos primordiais são estabelecidos, sendo que é na 20ª semana que as ovogônias são circundadas pelas células da granulosa na crista gonadal (região precursora das gônadas). O córtex é o tecido mais organizado do ovário e armazena todos os estágios dos folículos definidos em seu desenvolvimento ao longo da vida, como primordiais, primários, secundários e terciários (HINKLE *et al.*, 2021; SILVESTRES, 2020).

As mulheres nascem com um número finito de folículos em seus ovários, e após a puberdade, com a maturação do ovário, ocorre periodicamente o ciclo menstrual, onde um grupo de em média 30 a 40 folículos ovarianos se desenvolvem e amadurecem. Usualmente, um folículo dominante eclode em cada ciclo (figura 15), liberando o oócito maduro durante a ovulação e os folículos restantes se degradam (HINKLE *et al.*, 2021).

Figura 15 – Tuba e ovário direito com folículo dominante



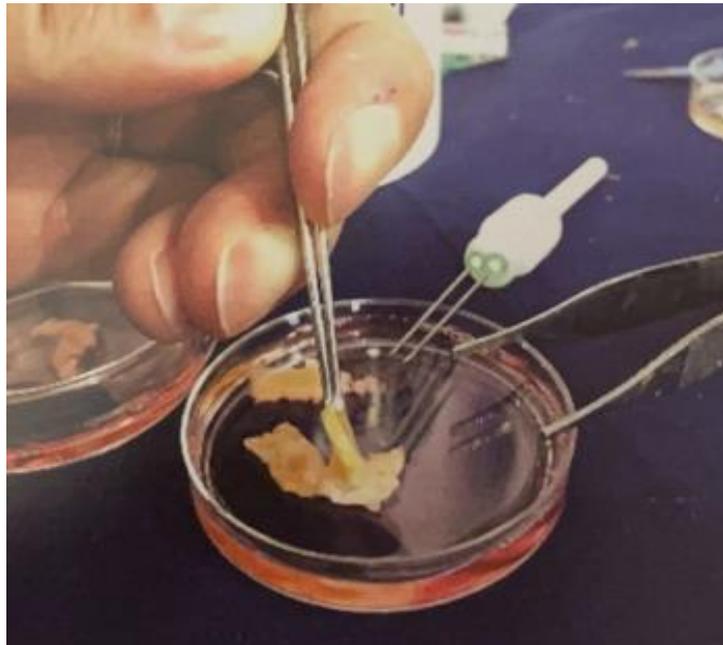
Fonte: Donadio *et al.*, 2021. Folículo que concluí o processo de amadurecimento e participa do processo de ovulação.

Sendo o tecido ovarino abundante em folículos primordiais (FP), a CTO permite a preservação desse tecido. A fertilidade está diretamente relacionada a essa reserva folicular, já que os FP são biomarcadores do potencial da fertilidade feminina e a possibilidade de criopreservar esse tecido, assegura uma fertilidade futura (RIBEIRO; MONTEIRO; OLIVEIRA, 2020).

7.1 Restauração da fertilidade

A ASRM apoia fortemente a utilização de cirurgias reprodutivas, e para a realização da CTO, os fragmentos ovarianos são removidos cirurgicamente através da técnica de videolaparoscopia, retirando fragmentos da camada cortical do ovário que contém os folículos primordiais (Figura 16). Tal procedimento preferencialmente deve ser realizado utilizando princípios microcirúrgicos (GOMEL, 2019; IPGO, 2019).

Figura 16 – Fragmento de córtex ovariano



Fonte: Donadio *et al.*, 2021. Espessura dos fragmentos de córtex ovariano pré-criopreservado, onde os fragmentos com espessura de 0,5 e 1,5mm apresentaram melhores taxas de recuperação.

A cirurgia videolaparoscópica é realizada por um fino tubo de fibras óticas, o laparoscópio, e este é introduzido pelo umbigo da paciente. Na extremidade, há uma câmara que grava e transmite imagens guiada por meio de uma pinça pelo cirurgião, sendo um procedimento cirúrgico moderno e minimamente invasivo. Essa cirurgia pode ser indicada para diagnóstico e tratamento de diversas patologias dos órgãos intraperitoneais, incluindo problemas de fertilidade (ORIGEN, 2022; FERNANDES *et al.*, 2021).

A partir de uma excisão laparoscópica do tecido ovariano, uma porção do córtex é dissecado da medula, cortado em tiras e imerso em criopreservantes para que seja realizado o protocolo da técnica de congelamento escolhida. O ideal é realizar biópsias de um ou ambos os ovários para então criopreservar o tecido, congelado em

tiras corticais, permanece assim até o momento adequado para ser reimplantado. Após o término do tratamento, ou quando desejado, o tecido pode ser transplantado autólogo para o ovário remanescente ou de forma ortotópica (como leito peritoneal e perto das tubas uterinas) e de forma heterotópica (como parede abdominal e membros) conforme figura 17 (GJETERUD; KRISTENSEN; FEDDER, 2021; IPGO, 2019; LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019).

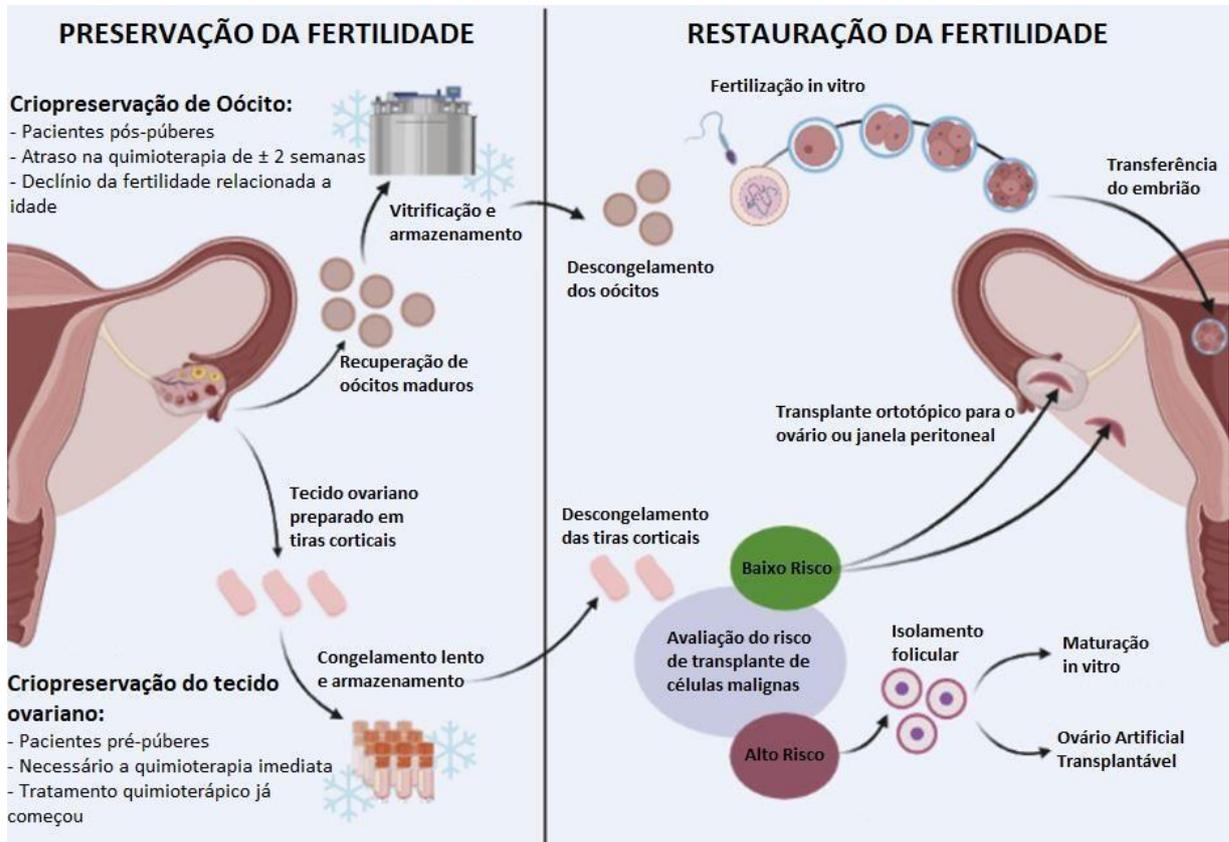
Figura 17 – Implante de fragmentos do ovário criopreservado



Fonte: IPGO, 2019. O tecido ovariano pode ser reimplado no local mais adequado indicado pela equipe médica, podendo ser feito na região pélvica ou extra-pélvica.

A biópsia é utilizada para uma avaliação anatomopatológica da presença do estágio dos folículos ovarianos e da presença ou não de malignidade. Caso detectado células cancerígenas, o tecido não pode ser transplantado de volta para o paciente. Nesse caso, existe a opção de isolar os folículos ovarianos e cultivá-los *in vitro* para obter óvulos maduros e realizarmos uma das técnicas da fertilização *in vitro*, ou até mesmo criar um ovário artificial transplantável (FIGURA 18) (BARBATO *et al.*, 2018; DOLMANS *et al.*, 2021; ROWELL *et al.*, 2019).

Figura 18 – Preservação e restauração da fertilidade através das técnicas de criopreservação de oócitos e de tecido ovariano



Fonte: ASRM, 2018. A criopreservação do tecido ovariano apresenta alguns benefícios em relação ao congelamento de oócitos, sendo a alternativa principal para pacientes, eliminando a necessidade de retardar o tratamento do câncer para a estimulação hormonal.

Lunding (2018) detalha o procedimento cirúrgico do autotransplante laparoscópico, dividindo-o em seis etapas essenciais.

Sendo [1] obtenção de amostras de biópsia cortical ovariana, [2] preparação da bolsa peritoneal, [3] fragmentação do tecido cortical ovariano em pedaços de aproximadamente 1 mm³, [4] instalação dos fragmentos de tecido em um cateter, [5] transplantando os fragmentos de tecido para a bolsa peritoneal e [6] fechando a bolsa peritoneal com um clipe cirúrgico (Lunding *et al.*, 2018, pág. 1).

Salienta também que após o procedimento deve-se avaliar as amostras de sangue das pacientes e realizar ultrassonografias seguidas de estimulação ovariana controlada.

A função endócrina é restaurada em grande parte das mulheres que foram submetidas ao transplante do tecido ovariano, a revisão de Kim *et al.* (2018) aponta que 92.9% dos casos restabeleceram as atividades do ovário com o aumento dos níveis de estradiol e diminuição dos níveis de FSH, ressaltando que a idade da paciente é um fator preditivo. Não existe um período certo para o retorno das funções ovarianas após o transplante, entretanto conforme estudo de Leonel, Lucci e Amorim (2019), o tecido do córtex ovariano retoma o desenvolvimento folicular de 4 a 6 meses em 63.9% dos casos.

Considerando esse período médio de 20 semanas para o reestabelecimento das funções ovarianas, os sintomas de menopausa já desaparecem, os folículos começam a ser visíveis, diminuem-se os níveis de FSH/LH e retornam as menstruações. Resultando na possibilidade de engravidar espontaneamente ou por meio da tecnologia da reprodução assistida, cerca de uma em cada quatro mulheres dá à luz uma criança saudável após o reimplante do tecido ovariano previamente congelado (DOLMANS *et al.*, 2021; GJETERUD; KRISTENSEN; FEDDER, 2021; IPGO, 2019).

Em comparação com a criopreservação de oócitos e embriões, a CTO destaca-se por entregar a possibilidade de uma gravidez natural e restauração da função hormonal. A função ovariana permanece por cerca de 5 anos após o transplante, dependendo do número de fragmentos transplantados e do número de folículos existentes nos fragmentos criopreservados (LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019; RIBEIRO; MONTEIRO; OLIVEIRA, 2020).

7.2 Congelamento Lento versus Vitriificação

Nas últimas décadas, o congelamento lento era o principal método escolhido para a técnica de criopreservação do tecido ovariano. Um método que requer de muitas horas expondo o tecido a baixas concentrações de crioprotetores enquanto a temperatura abaixa lentamente, com o objetivo de evitar danos osmóticos e tóxicos. No entanto, essas baixas concentrações podem ser insuficientes induzindo lesões celulares e promovendo a formação de cristais de gelo nas células (KOMETAS *et al.*, 2021; LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019).

Atualmente, o congelamento pela técnica de vitriificação trouxe novas perspectivas para o procedimento, submetendo o córtex ovariano a maiores

concentrações de crioprotetores e um menor tempo de exposição, com uma curva de congelamento de em torno de 20.000 C°/minuto (DONATIO *et al.*, 2021). Isso permite que o congelamento rápido faça com que a amostra biológica alcance o estado vítreo, evitando a formação de cristais de gelo no interior das células (NAGY *et al.*, 2020).

Os protocolos utilizados são similares aos utilizados na criopreservação de embrião e oócitos, no congelamento lento o tecido é submetido a uma curva gradual de decréscimo de temperatura (cerca de -0,3°C) enquanto na vitrificação o tecido é submetido as soluções de equilíbrio e de vitrificação para então serem congelados de forma extremamente rápida (DONATIO *et al.*, 2021).

Existem diversos estudos realizando a comparação entre esses dois métodos de criopreservação para o tecido ovariano, apesar de a maioria dos tecidos ovarianos criopreservados terem sido congelados por meio do protocolo de congelamento lento (DONATIO *et al.*, 2021). O estudo de Kometas *et al.* (2021) conclui que a heterogeneidade dos protocolos de estudo em laboratório impede o estabelecimento de uma conclusão definitiva sobre o melhor método, além de que apenas 0,7% a 14,1% das mulheres submetidas a CTO retornam para o transplante.

No entanto, Leonel, Lucci e Amorim (2019) aponta que existe uma discrepância considerável na qualidade tecidual obtida entre o congelamento lento e a vitrificação, onde é mantida uma morfologia tecidual mais efetivadas com taxas de 80,7% e 83,6% respectivamente. Sendo favorável a técnica de vitrificação e tornando essa uma alternativa promissora, já que previne lesões mecânicas e preserva a integridade morfológica do tecido de forma superior ao congelamento lento.

É importante ressaltar que a vitrificação ainda oferece uma escolha economicamente mais eficiente, pois pode ser realizada mais rapidamente, envolve menor quantidade de nitrogênio líquido, e não requer do uso de equipamentos caros. Enquanto o congelamento lento requer um tempo considerável e equipamentos específicos que possibilitam a programação da velocidade da redução da temperatura, o que aumenta os custos e diminui a acessibilidade KOMETAS *et al.*, 2021; LEONEL; LUCCI; AMORIM, 2019).

Com relatos promissores, muitos centros de RA mudaram o seu protocolo para a vitrificação. Reduzindo o custo e o tempo necessários para congelar o tecido ovariano, a vitrificação tornou o CTO mais acessível para pacientes submetidos à preservação da fertilidade. A criopreservação nessas circunstâncias torna possível a restauração da fertilidade em mulheres após o tratamento oncológico e se apresenta

com bons resultados, atraindo cada vez mais pacientes com esperanças de manter a possibilidade de gestar futuramente (KOMETAS *et al.*, 2021).

Estima-se que mais de 10 mil mulheres já tenham utilizado da técnica de tecido ovariano, dentro desse período de 20 anos de existência do método. Entretanto, o número de nascimentos vivos provenientes é de somente 130 bebês (DONATIO *et al.*, 2021).

7.3 Contraindicações

O procedimento cirúrgico para retirada e transplante do tecido pode não ser viável dependendo do quadro em que a paciente se encontra, além do risco de autotransplante de células malignas necessitar ser considerado. Essas têm potencial de estar presentes no tecido ovariano congelado e isso pode resultar na recorrência do tumor. À vista disso, a importância da biópsia, onde fragmentos individuais de tecido ovariano podem ser examinados para células cancerosas (GJETERUD; KRISTENSEN; FEDDER, 2021).

Conforme Gjeterud (2021), resultados bons, onde o risco de recorrência é mínimo, são relatados no autotransplante de tecido ovariano após o tratamento de câncer de mama, linfoma e sarcomas. Contudo, é descrito como de alto risco o autotransplante de pacientes com leucemia aguda e câncer do ovário. Outro fator de relevância é a idade, onde meninas pré-púberes apresentam um maior número de folículos quando comparadas a pacientes mais velhas (DONATIO *et al.*, 2021).

Levando em consideração a qualidade oocitária, a preservação da fertilidade deve ser realizada até 35 anos de idade. Há estudos que indicam que entre 35-37 anos ainda há a possibilidade de apresentar oócitos de boa qualidade. Agora, a partir dos 38 anos a reserva ovariana é relativa para cada mulher. Em visto disso, a realização da criopreservação do tecido ovariano após os 38 anos não é indicada (RIBEIRO; MONTEIRO; OLIVEIRA, 2020; FREITAS *et al.*, 2021; ALVARENGA, 2021).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atentando no explanado ao longo deste trabalho, há um aumento significativo de casos de câncer acometendo mulheres em idade reprodutiva, ocasionando uma infertilidade indesejada devido aos efeitos gonadotóxicos do tratamento. Com isso, é importante que os especialistas sobre a preservação da fertilidade informem as pacientes sobre os riscos apresentados, assim como suas complicações e as técnicas existentes para a sua preservação.

No decorrer desta monografia foi assinalada a necessidade da discussão das abordagens e estratégias de forma personalizada para a preservação da fertilidade diretamente com a paciente, com o objetivo de minimizar as complicações ocasionadas. Normalmente, a equipe deve ser composta por um oncologista especialista no caso, que irá avaliar qual a melhor forma de terapia que a paciente deve ser exposta sem trazer consequências negativas para seu quadro clínico proposta por um embriologista.

Entretanto, foi apresentado que ainda existe um grande déficit nessa informatização. Apesar da evolução das tecnologias da reprodução humana assistida e das diversas técnicas disponíveis, o tratamento do câncer acaba sendo a primeira preocupação e a infertilidade se torna um problema futuro quando se quer engravidar. Dito isso, o presente trabalho é relevante no aspecto de informar e trazer à tona mais conhecimento sobre as técnicas e a preservação de fertilidade.

Respondendo aos objetivos inicialmente definidos a partir de um processo de revisão bibliográfica, constatou-se que a criopreservação do material genético se tornou a principal opção em termos de técnica, para as pacientes oncológicas. As alternativas existentes são a criopreservação de ooócitos, embriões e/ou tecido ovariano. Da mesma forma que se entende necessária a avaliação de cada caso em particular, ponderando as necessidades de cada paciente e suas peculiaridades.

Destaca-se aqui, também, que a CTO é uma técnica recém estabelecida e deve ser mais difundida. Sendo a única técnica disponível para pacientes pré-puberal, abrange mais que essas pacientes e tem diversas outras vantagens sobre as demais técnicas. Permitindo o congelamento de uma grande quantidade de folículos simultaneamente, sua obtenção independe da idade e fase do ciclo, e a não necessidade de um parceiro.

Tendo em vista todos esses aspectos observados, também, pode-se concluir que o planejamento reprodutivo requer uma organização dos serviços e dos processos de saúde no desenvolvimento de ações para maximizar o acesso as tecnologias de reprodução assistida quando necessário. O conhecimento das técnicas entrega autonomia para a mulher, permitindo-a tomar as melhores decisões para garantir a maternidade no futuro, se assim quiser.

REFERÊNCIAS

ALJASER, Fedaa. Preservation of fertility in female: indications, available options, and current status in Saudi Arabia. **Seminars In Oncology**, [S.L.], v. 47, n. 6, p. 390-397, dez. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminoncol.2020.09.003>. Acesso em 08 ago. 2022.

ALVARENGA, Raquel de Lima Leite Soares. **Jornada da fertilidade: guia essencial para toda tentante**. [S.L.]: Ás Editorial, 2021. 192 p.

APPOLINÁRIO, Fabio. **Dicionário de metodologia científica**. 2. ed. São Paulo: Atlas, 2011. 295p.

ASHIZAWA, Masahiro; KANDA, Yoshinobu. Preservation of fertility in patients with hematological malignancies. **Japanese Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 50, n. 7, p. 729-742, 18 maio 2020. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jjco/hyaa043>.

ASRM, Ethics Committee Of The American Society For Reproductive Medicine (ASRM). Fertility preservation and reproduction in patients facing gonadotoxic therapies: an ethics committee opinion. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 110, n. 3, p. 380-386, ago. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.05.034>. Acesso em 08 ago. 2022

ASSIS, Ana Clara Veloso de *et al.* Preservação da fertilidade e quimioterapia: uma revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-9, 31 jan. 2022. Revista Eletronica Acervo Saude. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.25248/reas.e9640.2022>. Acesso em 17 mar. 2022.

BARBATO, Vincenza *et al.* Slush nitrogen vitrification of human ovarian tissue does not alter gene expression and improves follicle health and progression in long-term in vitro culture. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 110, n. 7, p. 1356-1366, dez. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.08.020>. Acesso em 13 jan. 2022.

BEDOSCHI, Giuliano; NAVARRO, Paula Andrea; OKTAY, Kutluk. Chemotherapy-induced damage to ovary: mechanisms and clinical impact. **Future Oncology**, [S.L.], v. 12, n. 20, p. 2333-2344, out. 2016. Future Medicine Ltd. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2217/fon-2016-0176>. Acesso em 01 jun. 2022.

BENOIT, Alexandra *et al.* Does a web-based decision aid improve informed choice for fertility preservation in women with breast cancer (DECISIF)? Study protocol for a randomised controlled trial. **Bmj Open**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 1-7, fev. 2020. BMJ. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2019-031739>. Acesso em 18 fev. 2022.

BIEDKA, Marta *et al.* Fertility impairment in radiotherapy. **Współczesna Onkologia**, [S.L.], v. 3, p. 199-204, 2016. Termedia Sp. z.o.o.. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5114/wo.2016.57814>. Acesso em 17 mar. 2022.

BOCCATO, V. R. C. Metodologia da pesquisa bibliográfica na área odontológica e o artigo científico como forma de comunicação. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**. São Paulo, v. 18, n. 3, p. 265-274, 2006. Disponível em

<<https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/rdbci/article/view/1896>> Acesso em 20 out. 2022.

BORGES JÚNIOR, Edson; BRAGA, Daniela Paes de Almeida Ferreira; SETTI, Amanda Souza. **Reprodução humana assistida**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2020. p. 277-282. Associação Instituto Sapientiae.

BOSCH, Ernesto; VOS, Michel de; HUMAIDAN, Peter. The Future of Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 11, p. 1-15, 20 fev. 2020. Frontiers Media SA. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2020.00067>. Acesso em 23 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Câncer**: O que é câncer?. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/cancer>. Acesso em 10 abr. 2022.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina. **Resolução nº 2.013/13, de 16 de abril de 2013**. Brasília: Conselho Federal de Medicina, 16 abr. 2022. Disponível em: <https://portal.cfm.org.br/images/PDF/resoluocfm%202013.2013.pdf>. Acesso em: 20 set. 2022.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **ABC do Câncer**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, v. 6, 2020. Disponível em: https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document/livro_abc_6ed_0.pdf. Acesso em: 06 ago. 2022.

BRASIL Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Tratamento do Câncer**. 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tratamento/cirurgia>. Acesso em: 06 ago. 2022.

BUSHBERG, Jerrold T.. **Lesões provocadas pela radiação**. 2021. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt/casa/les%C3%B5es-e-envenenamentos/les%C3%B5es-provocadas-pela-radia%C3%A7%C3%A3o/les%C3%B5es-provocadas-pela-radia%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 3 out. 2022.

CARVALHO, Bruno Ramalho de *et al.* Ex vivo Retrieval of Mature Oocytes for Fertility Preservation in a Patient with Bilateral Borderline Ovarian Tumor. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia / Rbgo Gynecology And Obstetrics**, [S.L.], v. 43, n. 03, p. 225-231, 19 jan. 2021. Georg Thieme Verlag KG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0040-1718436>. Acesso em 19 jul. 2022.

CARVALHO, Mariana Oliva Cassará; LIMA, Sônia Maria Rolim Rosa. Criopreservação de oócitos no menacme: aconselhamento e indicações / oocyte cryopreservation in the menacme. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, [S.L.], v. 65, n. 1, p. 1, 8 dez. 2020. Fundação

Arnaldo Vieira de Carvalho. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.26432/1809-3019.2020.65.044>. Acesso em 25 jul. 2022.

CASTELLOTTI, Daniella S.; CAMBIAGHI, Arnaldo S.. Preservação da fertilidade em pacientes com câncer. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 30, n. 5, p. 406-410, out. 2008. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842008000500014>. Acesso em 19 jul. 2022.

CAVAGNA, F. *et al.* Specific Protocols of Controlled Ovarian Stimulation for Oocyte Cryopreservation in Breast Cancer Patients. **Current Oncology**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 527-532, 1 dez. 2018. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3747/co.25.3889>. Acesso em 08 set. 2022.

CAVAGNA, Felipe Andreotta; DZIK, A.; MIKLOS, T. G.. **Estimulação ovariana controlada para criopreservação de oócitos em pacientes com câncer de mama**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ginecologia, Obstratícia e Mastologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, 2017.

CERVO, Amado. Luiz.; BERVIAN, Pedro. A.; SILVA, Roberto. **Metodologia científica**. 6. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2007.

COBO, Ana *et al.* Oocyte vitrification for fertility preservation for both medical and nonmedical reasons. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 115, n. 5, p. 1091-1101, maio 2021. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.02.006>. Acesso em 14 out. 2022.

COLMORN, Lotte Berdiin *et al.* Fertility preservation. **Ugeskr Laeger**, [S.L.], v. 48, n. 183, 29 nov. 2021. PMID: 34852903.

CRYOTECH. **Método Cryotech**: para oócitos e embriões. Para oócitos e embriões. Disponível em: https://www.cryotechlab.com/sitio/wp-content/uploads/2019/11/Vitri_Book_Portugues.pdf. Acesso em: 23 set. 2022.

DESHPANDE, Neha A.; BRAUN, Ilana M.; MEYER, Fremonta L.. Impact of fertility preservation counseling and treatment on psychological outcomes among women with cancer: a systematic review. **Cancer**, [S.L.], v. 121, n. 22, p. 3938-3947, 11 ago. 2015. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.29637>. Acesso em 24 mar. 2022.

DOLMANS, Marie-Madeleine *et al.* Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading european centers. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 115, n. 5, p. 1102-1115, maio 2021. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.03.008>. Acesso em 03 fev. 2022.

DOLMANS, Marie-Madeleine; MANAVELLA, Diego D.. Recent advances in fertility preservation. **Journal Of Obstetrics And Gynaecology Research**, [S.L.], v. 45, n. 2, p. 266-279, 23 set. 2018. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/jog.13818>. Acesso em 19 mai. 2022.

DONADIO, Nilka Fernandes *et al.* **Reprodução Assistida e Genética**: texto e atlas. São Paulo: Leitura Médica, 2021. Sociedade Brasileira de Reprodução Humana - SBRH.

FERNANDES, Sarah Rabelo *et al.* Análise das vantagens e desvantagens da cirurgia videolaparoscópica em relação à laparotomia: uma revisão integrativa de literatura. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 1-7, 26 set. 2021. Research, Society and Development. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20356>. Acesso em 27 fev. 2022.

FISCH, Benjamin; ABIR, Ronit. Female fertility preservation: past, present and future. **Reproduction**, [S.L.], v. 156, n. 1, p. 11-27, jul. 2018. Bioscientifica. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1530/rep-17-0483>. Acesso em 22 jul. 2022.

FLEURY, Audrey *et al.* Breast cancer and ovarian tissue cryopreservation: review of the literature. **Journal Of Gynecology Obstetrics And Human Reproduction**, [S.L.], v. 47, n. 8, p. 351-357, out. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jogoh.2018.05.008>. Acesso em 18 jul. 2022.

FONTELLES, Mauro José *et al.* **Metodologia de pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de um protocolo de pesquisa**. Belém: Centro de Recursos Computacionais: Universidade Federal de Goiás, 2009. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/150/o/Anexo_C8_NONAME.pdf. Acesso em 20 out. 2022.

FREITAS, Aline Rodrigues de *et al.* A efetividade das técnicas de criopreservação na manutenção da fertilidade em pacientes oncológicas: uma revisão literária/ the effectiveness of cryopreservation techniques in maintaining fertility in oncologic patients. **Brazilian Journal Of Health Review**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 13584-13594, 22 jun. 2021. South Florida Publishing LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv4n3-303>. Acesso em 10 out. 2022.

GEUE, Kristina *et al.* The Desire for Children and Fertility Issues Among Young German Cancer Survivors. **Journal Of Adolescent Health**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 527-535, maio 2014. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jadohealth.2013.10.005>. Acesso em 16 set. 2022.

GJETERUD, Julie; KRISTENSEN, Stine Gry; FEDDER, Jens. Indikasjoner for kryopreservering og autotransplantasjon av eggstokkvev. **Tidsskrift For Den Norske Legeforening**, [S.L.], p. 1-6, 2021. Norwegian Medical Association. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4045/tidsskr.21.0030>. Acesso em 10 fev. 2022.

GODOY, A. S. Introdução a pesquisa qualitativa e suas possibilidades. **Revista de Administração de Empresas**. São Paulo, v. 35, n. 2, Mar./Abr. 1995, p. 57-63.

GOMEL, Victor. From laparotomy to laparoscopy to in vitro fertilization. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 112, n. 2, p. 183-196, ago. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.06.028>. Acesso em 13 mai. 2022

HAO, Xia *et al.* Ovarian Follicle Depletion Induced by Chemotherapy and the Investigational Stages of Potential Fertility-Protective Treatments—A Review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 19, p. 4720, 23 set. 2019. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20194720>. Acesso em 26 set. 2021.

HARADA, Miyuki; OSUGA, Yutaka. Fertility preservation for female cancer patients. **International Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 28-33, 3 mar. 2018. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10147-018-1252-0>. Acesso em 19 fev. 2022.

HINKLE, Kathleen *et al.* Cryopreservation of Ovarian Tissue for Pediatric Fertility. **Biopreservation And Biobanking**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 130-135, 1 abr. 2021. Mary Ann Liebert Inc. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/bio.2020.0124>. Acesso em 03 ago. 2022

HOWIE, Ruth; KAY, Vanessa. Controlled ovarian stimulation for in-vitro fertilization. **British Journal Of Hospital Medicine**, [S.L.], v. 79, n. 4, p. 194-199, 2 abr. 2018. Mark Allen Group. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.12968/hmed.2018.79.4.194>. Acesso em 19 ago. 2022.

IPGO. Medicina Reprodutiva (São Paulo). **Oncofertilidade**: preservação da fertilidade em pacientes com câncer. Preservação da fertilidade em pacientes com câncer. 2019. Disponível em: <https://ipgo.com.br/oncofertilidade-preservacao-da-fertilidade-em-pacientes-com-cancer/>. Acesso em: 06 ago. 2022.

KIM, Sooyoung *et al.* Ovarian tissue cryopreservation and transplantation in patients with cancer. **Obstetrics & Gynecology Science**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 431, 2018. Korean Society of Obstetrics and Gynecology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5468/ogs.2018.61.4.431>. Acesso em 07 fev. 2022.

KOMETAS, Marisa *et al.* Methods of Ovarian Tissue Cryopreservation: is vitrification superior to slow freezing?.: ovarian tissue freezing methods. **Reproductive Sciences**, [S.L.], v. 28, n. 12, p. 3291-3302, 3 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s43032-021-00591-6>. Acesso em 16 set. 2022.

LAMBERTINI, Matteo *et al.* Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists During Chemotherapy for Preservation of Ovarian Function and Fertility in Premenopausal Patients With Early Breast Cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient-level data. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 36, n. 19, p. 1981-1990, 1 jul. 2018. American Society of Clinical Oncology (ASCO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2018.78.0858>. Acesso em 13 nov. 2022.

LEONEL, Ellen Cristina Rivas; LUCCI, Carolina M.; AMORIM, Christiani A.. Cryopreservation of Human Ovarian Tissue: a review. **Transfusion Medicine And Hemotherapy**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 173-181, 2019. S. Karger AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000499054>. Acesso em 14 fev. 2022.

LEVINE, Jennifer M. *et al.* Infertility in reproductive-age female cancer survivors. **Cancer**, [S.L.], v. 121, n. 10, p. 1532-1539, 3 fev. 2015. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.29181>. Acesso em 18 mai. 2022

LINKEVICIUTE, Alma *et al.* Fertility preservation in cancer patients: the global framework. **Cancer Treatment Reviews**, [S.L.], v. 40, n. 8, p. 1019-1027, set. 2014. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.06.001>. Acesso em 21 set. 2022.

LOGAN, S. *et al.* A systematic review of patient oncofertility support needs in reproductive cancer patients aged 14 to 45 years of age. **Psycho-Oncology**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 401-409, 13 set. 2017. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/pon.4502>. Acesso em 25 ago. 2022

LUNDING, Stine Aagaard *et al.* Autotransplantation of fragmented ovarian cortical tissue: a laparoscopic demonstration. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 110, n. 6, p. 1181-1183, nov. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.08.024>. Acesso em 15 mai. 2022.

MADDEN, Jill A.; THOMAS, Porsha Q.; KEATING, Aileen F.. Phosphoramidate mustard induces autophagy markers and mTOR inhibition prevents follicle loss due to phosphoramidate mustard exposure. **Reproductive Toxicology**, [S.L.], v. 67, p. 65-78, jan. 2017. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.11.014>. Acesso em 06 jan. 2021

MARCI, Roberto *et al.* Radiations and female fertility. **Reproductive Biology And Endocrinology**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-12, dez. 2018. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12958-018-0432-0>. Acesso em 27 dez. 2021

MARTINEZ, Francisca *et al.* Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation–ESHRE–ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 108, n. 3, p. 407-427, set. 2017. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.024>. Acesso em 13 abr. 2022

MATTEI, Valentina Elisabetta di *et al.* Factors Associated With a High Motivation to Undergo Fertility Preservation in Female Cancer Patients. **Frontiers In Psychology**, [S.L.], v. 12, p. 1-8, 16 dez. 2021. Frontiers Media SA. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fpsyg.2021.782073>. Acesso em 29 mai. 2022

MELO, Anderson Sanches de *et al.* Fertility optimization in women with cancer: from preservation to contraception. **Jbra Assisted Reproduction**, [S.L.], p. 418-429, 2019. GN1 Genesis Network. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20190011>. Acesso em 04 jun. 2022

MONTEIRO, Priscila Silva de Almeida. **Vitrificação espermática de Prochilodus brevis**: diluentes, crioprotetores, volume armazenado e suplementação com polissacarídeos sulfatados da pele de oreochromis niloticus. 2020. 101 f. Tese

(Doutorado) - Curso de Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2020.

MORAES, Camila Cruz de *et al.* Oocyte cryopreservation for future fertility: comparison of ovarian response between cancer and non-cancer patients. **Jbra Assisted Reproduction**, [S.L.], p. 91-98, 2019. GN1 Genesis Network. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20190010>. Acesso em 16 mai. 2022

MUÑOZ, M. *et al.* SEOM Clinical Guideline of fertility preservation and reproduction in cancer patients (2016). **Clinical And Translational Oncology**, [S.L.], v. 18, n. 12, p. 1229-1236, 28 nov. 2016. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12094-016-1587-9>. Acesso em 28 fev. 2022

NAGY, Zsolt Peter; SHAPIRO, Daniel; CHANG, Ching-Chien. Vitrification of the human embryo: a more efficient and safer in vitro fertilization treatment. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 113, n. 2, p. 241-247, fev. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.12.009>. Acesso em 19 abr. 2022

OKTAY, Kutluk *et al.* Fertility Preservation in Patients With Cancer: asco clinical practice guideline update. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 36, n. 19, p. 1994-2001, 1 jul. 2018. American Society of Clinical Oncology (ASCO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2018.78.1914>. Acesso em 16 mai. 2022

OKUNO, Emico; YOSHIMURA, Elisabeth Mateus. **Física das radiações**. [S.L]: Oficina de Textos, 2010. 296 p.

ORIGEN. **Laparoscopia e Tratamento de Infertilidade**. Belo Horizonte, Brasil. Disponível em: <https://origen.com.br/laparoscopia-e-tratamento-de-infertilidade/>. Acesso em: 13 set. 2022.

PIRES, Jessica da Silva; SOUZA, Manoel Messias Alves de; SILVA, Ronaldo Carvalho da. A crescente mortalidade por neoplasias malignas num município do piemonte norte Baiano/Brasil. **International Journal Of Development Research**, Petrolina, v. 10, n. 10, p. 41215-41220, 2020.

RASHEDI, Alexandra S. *et al.* Survey of Fertility Preservation Options Available to Patients With Cancer Around the Globe. **Jco Global Oncology**, [S.L.], n. 6, p. 331-344, nov. 2020. American Society of Clinical Oncology (ASCO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1200/jgo.2016.008144>. Acesso em 14 ago. 2022

RIBEIRO, Larissa Sousa; MONTEIRO, Paula Bruno; OLIVEIRA, Nayara Santos. Atualização em criopreservação de tecido ovariano. **Brazilian Journal Of Health Review**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1034-1051, 2020. Brazilian Journal of Health Review. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv3n1-081>. Acesso em 14 set. 2022.

RIENZI, Laura *et al.* Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. **Human Reproduction Update**, [S.L.], p. 173-181, 8 nov. 2016. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmw038>. Acesso em 19 ago. 2022

RODRIGUES, Ana Paula Ribeiro *et al.* Criopreservação do tecido ovariano visando restaurar a fertilidade humana. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Fortaleza, v. 40, n. 4, p. 188-193, 2016.

ROSA, Valentina Lucia La *et al.* Quality of life and fertility preservation counseling for women with gynecological cancer: an integrated psychological and clinical perspective. **Journal Of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 86-92, 2 ago. 2019. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/0167482x.2019.1648424>. Acesso em 09 set. 2021.

ROWELL, Erin E. *et al.* Laparoscopic unilateral oophorectomy for ovarian tissue cryopreservation in children. **Journal Of Pediatric Surgery**, [S.L.], v. 54, n. 3, p. 543-549, mar. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2018.06.005>. Acesso em 27 jul. 2022.

SCIORIO, Romualdo. Cryopreservation of human embryos and oocytes for fertility preservation in cancer and non cancer patients: a mini review. **Gynecological Endocrinology**, [S.L.], v. 36, n. 5, p. 381-388, 31 jan. 2020. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/09513590.2020.1719402>. Acesso em 29 jul. 2022.

SILVA, Stephanie da *et al.* Fertilidade e contracepção em mulheres com câncer em tratamento quimioterápico. **Escola Anna Nery**, [S.L.], v. 25, n. 1, 2021. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/2177-9465-ean-2019-0374>. Acesso em 18 jul. 2022.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia Humana Uma Abordagem Integrada**. 7. ed. [S.I]: Artmed, 2017. 963 p.

SILVESTRIS, Erica *et al.* Human Ovarian Cortex biobanking: a fascinating resource for fertility preservation in cancer. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 9, p. 3245, 4 maio 2020. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21093245>. Acesso em 21 set. 2022.

SONIGO, Charlotte *et al.* The Impact of Chemotherapy on the Ovaries: molecular aspects and the prevention of ovarian damage. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 21, p. 5342, 27 out. 2019. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20215342>. Acesso em 16 out. 2022.

TAYLAN, Enes; OKTAY, Kutluk. Fertility preservation in gynecologic cancers. **Gynecologic Oncology**, [S.L.], v. 155, n. 3, p. 522-529, dez. 2019a. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.09.012>. Acesso em 19 nov. 2021

TAYLAN, Enes; OKTAY, Kutluk. Transplante autólogo de tecido ovariano humano. In: LEUNG, Peter; ADASHI, Eli. **The Ovary**. 3. ed. [S.I]: Elsevier, 2019b. p. 493-500.

TOMÁS, Claudia *et al.* Preservação da fertilidade em doentes oncológicos ou sob terapêutica gonadotóxica: estado da arte. **Reprodução & Climatério**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 55-61, jan. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2015.11.004>. Acesso em 12 fev. 2022.

UFRGS. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Criopreservação – Tópicos em Embriologia Clínica**. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/topicosembriao/Criopreserv.html>. Acesso em: 23 set. 2022.

WOODRUFF, Teresa K.; GOSIENGFIAO, Yasmin C.. **Pediatric and Adolescent Oncofertility: best practices and emerging technologies**. [S.I.]: Springer, 2017. 317 p.