

**UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**EFEITOS DOS PRÉ-TRATAMENTOS COM PARACETAMOL E  
IBUPROFENO NA FERTILIDADE DE CAMUNDONGOS SWISS**

**CRISTINA ABREU DE ARAÚJO**

**VILA VELHA**  
**OUTUBRO/2019**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**EFEITOS DOS PRÉ-TRATAMENTOS COM PARACETAMOL E  
IBUPROFENO NA FERTILIDADE DE CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada a Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

**CRISTINA ABREU DE ARAÚJO**

**VILA VELHA**  
**OUTUBRO/2019**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

A663e Araújo, Cristina Abreu  
Efeitos dos pré-tratamentos com paracetamol e do ibuprofeno na  
fertilidade de Camundongos *Swiss* / Cristina Abreu Araújo. – 2019.  
33 f. : il.

Orientador: Carlos Eduardo Tadokoro.  
Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) -  
Universidade Vila Velha, 2019.  
Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Camundongos.  
3. Acetaminofen. I. Tadokoro, Carlos Eduardo. II. Universidade Vila  
Velha. III. Título.

CDD 615

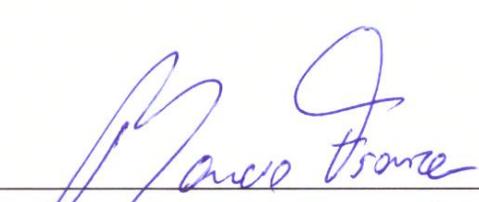
**CRISTINA ABREU DE ARAUJO**

**EFEITOS DOS PRÉ-TRATAMENTOS COM PARACETAMOL E  
IBUPROFENO NA FERTILIDADE DE CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada à Universidade  
Vila Velha, como pré-requisito do  
Programa de Pós-graduação em Ciências  
Farmacêuticas, para a obtenção do grau de  
Mestre (a) em Ciências Farmacêuticas.

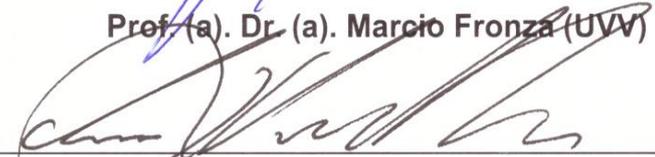
Aprovado (a) em 11 de outubro de 2019,

Banca Examinadora:



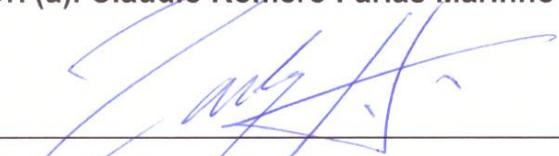
---

**Prof. (a). Dr. (a). Marcio Fronza (UVV)**



---

**Prof. (a). Dr. (a). Claudio Romero Farias Marinho (USP)**



---

**Prof. (a). Dr. (a). Carlos Eduardo Tadokoro (UVV)**

**Orientador (a)**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me dar saúde e muita força para superar todas as dificuldades.

A Universidade de Vila Velha e aos professores do PPGCF, além da direção e administração, que me proporcionaram as condições necessárias para que eu alcançasse meus objetivos.

Ao meu orientador, Carlos Eduardo Tadokoro, por todo o tempo que dedicou a me ajudar durante o processo de realização deste trabalho.

Aos funcionários do biotério, Roberta e Daniel, pela paciência em me auxiliar nos experimentos.

A minha mãe, que me incentivou sempre a buscar novos desafios e conhecimentos.

E enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, seja de forma direta ou indireta, fica registrado aqui o meu muito obrigado!

## LISTA DE FIGURAS

- |                 |   |         |
|-----------------|---|---------|
| <b>Figura 1</b> | O sistema reprodutivo opera como um sistema clássico de feedback.   | Pág. 14 |
| <b>Figura 2</b> | Efeito do paracetamol e do ibuprofeno na porcentagem de fêmeas grávidas da linhagem de camundongos Swiss. | Pág. 32 |
| <b>Figura 3</b> | Efeito do paracetamol e do ibuprofeno no número de filhotes por fêmeas da linhagem de camundongos Swiss.  | Pág. 33 |
| <b>Figura 4</b> | Anatomia dos úteros de camundongos prenhes da linhagem Swiss.   | Pág. 34 |
| <b>Figura 5</b> | Anatomia dos úteros de camundongos da linhagem Swiss virgens.   | Pág. 35 |
| <b>Figura 6</b> | Morfologia das placentas e embriões da linhagem de camundongos Swiss.                                     | Pág. 36 |

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Estágios de desenvolvimento fetal.	Pág. 21
<b>Tabela 2</b>	Riscos do uso de analgésicos e antipiréticos na gravidez.	Pág. 26

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>FDA</b>	<b><i>Food and Drug Administration</i></b>
<b>THO</b>	<b><i>T helper</i> imaturos</b>
<b>IL-2</b>	<b>interleucina 2</b>
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	<b>interferona-<math>\gamma</math></b>
<b>Treg</b>	<b>Células T reguladoras</b>
<b>DRPs</b>	<b>Problemas Relacionados com as Drogas</b>
<b>ITU</b>	<b>Infecção do Trato Urinário</b>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	4
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	6
2.1. <i>Fertilidade na espécie humana</i> .....	6
2.1.1. <i>Infertilidade feminina</i> .....	4
2.1.2. <i>Endometriose</i> .....	6
2.1.3. <i>Infertilidade masculina</i> .....	7
2.4. <i>Efeitos de medicamentos na fertilidade humana</i> .....	13
2.5. <i>Uso de medicamentos durante a gravidez</i> .....	14
2.4.1. <i>Classificação de risco dos medicamentos para uso na gravidez</i> .....	18
3. HIPÓTESE.....	21
4. OBJETIVOS.....	21
4.1. <i>Objetivo geral</i> .....	21
4.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	21
5. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
5.1. <i>Camundongos e comitê de etica animal</i> .....	22
5.2. <i>Tratamentos dos animais com ibuprofeno e paracetamol</i> .....	22
5.3. <i>Avaliação da fertilidade após os tratamentos</i> .....	22
5.4. <i>Análise estatística</i> .....	23
6. RESULTADOS .....	24
6.1. <i>Efeito dos medicamentos sobre a fertilidade de fêmeas da linhagem swiss</i> .....	24
7. DISCUSSÃO.....	29
8. CONCLUSÕES.....	31
9. REFERÊNCIAS .....	32

## RESUMO

ARAÚJO, CRISTINA ABREU Sc.M, Universidade Vila Velha - ES, outubro de 2019. **EFEITOS DOS PRÉ-TRATAMENTOS COM PARACETAMOL E IBUPROFENO NA FERTILIDADE DE CAMUNDONGOS SWISS.** Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Tadokoro.

A gravidez é uma condição fisiológica que exige tolerância ao feto em desenvolvimento, sendo, nesse período importante que a mulher não se exponha ao uso de medicamentos que possam comprometer à saúde. Estudos relataram que cerca de 40-50% das mulheres recebem prescrição de medicamentos no primeiro trimestre e 60-70% no terceiro trimestre de gravidez. No Brasil, estima-se que mais de 50% das gestantes se auto medicam. A terapia farmacológica em gestantes é feita com objetivo de controlar os sintomas e evitar efeitos adversos. A agência reconhecida internacionalmente reguladora da segurança de alimentos e medicamentos (*Food and drug administration*- FDA), proíbe a realização de testes de estudo clínico para liberação de novos medicamentos no mercado em mulheres na idade reprodutiva e grávidas. Contraditoriamente, medicamentos já consagrados no mercado oferecem poucas informações referentes ao seu uso durante a gravidez. Além disso, vários medicamentos que são utilizados em mulheres grávidas, podem atuar em diversas vias metabólicas, com potencial para interferir no andamento normal da gravidez. No entanto, poucos estudos são realizados em tecidos placentários com o objetivo de compreender a interferência destes medicamentos nas células deste tecido. A fertilidade de ratos machos e a competência sexual é diminuída pelo uso prolongado de paracetamol. Recentes estudos em nosso grupo indicam paracetamol e ibuprofeno têm efeito deletério sobre os trofoblastos (principais constituintes placentários) e na conversão de células T reguladoras *in vitro* o que aponta para a possibilidade de os mesmos interferirem nos eventos essenciais da gravidez, começando pela implantação do blastocisto. No entanto, seu efeito sobre a fertilidade de fêmeas ainda não foi comprovado. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo determinar se o uso de paracetamol e ibuprofeno teria efeito sobre a fertilidade de camundongos fêmeas swiss. Fêmeas foram separadas em 4 grupos (Controle, PBS, ipuprofeno e paracetamol), tratados com paracetamol (370 mg/kg) ou com ibuprofeno (5 mg/kg) durante dois períodos de 5 dias. A avaliação da fertilidade foi feita permitindo-se o acasalamento com machos, durante um período de 5 dias após os tratamentos, com remoção dos machos após este período de acasalamento. Estas fêmeas foram então eutanasiadas após 10 dias. Em cada grupo foram avaliadas a proporção de fêmeas grávidas, o número de fetos ou filhotes, e a quantidade de reabsorções fetais espontâneas. Todos os procedimentos foram executados seguindo as diretrizes e normas do CONCEA (nº 494-2018). Os dados foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA) e a significância da diferença entre as médias determinada por teste post-hoc pelo método de Tukey,  $p < 0,05$  usando o *software* GraphPrism®. Os resultados sugerem não haver diferença na fertilidade entre as fêmeas tratadas e as não tratadas, sugerindo que a utilização prévia destes medicamentos não gera efeitos adversos para mulheres que queiram conceber, desde que seus usos sejam interrompidos antes do período de tentativas de concepção.

**Palavras chaves:** ibuprofeno, paracetamol, fertilidade, camundongos-swiss.

## ABSTRACT

ARAÚJO, CRISTINA ABREU Sc.M, Universidade Vila Velha - ES, october 2019.  
**PARACETAMOL AND IBUPROPHEN EFFECTS ON FERTILITY OF SWISS MICE**  
Scientific advisor: Prof. Dr. Carlos Eduardo Tadokoro.

Pregnancy is a physiological condition that requires developmental tolerance. During this important period, women do not expose the use of medicines that may compromise their health. Related studies show that about 40-50% of women receive prescription drugs in the first trimester and 60-70% in the third trimester of pregnancy. In Brazil, it is estimated that over 50% of managers self-medicate making prescription medication a challenge. Pharmacological therapy in pregnant women is aimed at controlling symptoms and avoiding adverse effects, using drug doses that ensure the minimization of fetal exposure. An International Food and Drug Administration (FDA) agency conducts clinical trial trials for the release of new drugs on the market in women of reproductive and pregnant age. Contradictorily, drugs already on the market include little information related to use during pregnancy. Besides, various medications that are used in pregnant women can act in a variety of metabolic pathways, potentially interfering with the normal course of pregnancy. However, few studies are conducted on placental tissues to understand the interference of these drugs in the cells of this tissue. Male rat fertility and sexual competence are impaired by prolonged use of acetaminophen. Recent studies in our group using acetaminophen and ibuprofen have a deleterious effect on trophoblasts (major placental constituents) and on the conversion of regulatory T cells in vitro or indicate that they may interfere with pregnancy events, whereby by using the blastocyst. However, its effect on the fertility has not yet been proven notwithstanding nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as ibuprofen (IBU) and analgesic drugs such as acetaminophen (APAP, or paracetamol) are widely used to treat inflammation and pain killer most commonly prescribed drugs in the first trimester of pregnancy. Thus, this study aims to determine the use of acetaminophen and ibuprofen effect criteria for a group of Swiss baby mice. Females were separated into 4 groups (Control, PBS, ibuprofen, and paracetamol), treated with paracetamol (10 mg/kg) or ibuprofen (5 mg/kg) for two periods of 5 days. Fertility was evaluated by allowing mating with males over a period of 5 days, with the removal of males after this period. These females were then euthanized after 10 days. In each group were evaluated the proportion of pregnant females, the number of fetuses or pups, and the amount of spontaneous fetal resorption. All procedures were performed following the guidelines and standards of CONCEA (No. 494-2018). The data were submitted to one-way analysis of variance (ANOVA) and the significance of the difference between the means determined by posthoc test by Tukey method,  $p < 0.05$  using GraphPrism® software. The results suggest no difference between the treated and untreated females, regarding the number of implantations or spontaneous abortions, suggesting no adverse effects related to fertility if these medications are not in use during the period of conception.

**Keywords:** ibuprofen, acetaminophen, fertility, swiss mice.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante a gravidez, o corpo sofre adaptações significativas tanto anatômicas quanto fisiológicas para acomodar o desenvolvimento fetal (SOMMA-PILLAY et al., 2016). Além disso, a gravidez é uma condição fisiológica, que exige imunotolerância ao feto em desenvolvimento para que esse não seja rejeitado (KENNY; KELL, 2017). Os mecanismos pelos quais o feto pode ser atacado pelo sistema imune materno embora muito estudados, não estão completamente compreendidos, mas envolvem desde efeitos tóxicos ao feto e/ou placenta, até o comprometimento da tolerância fetal (BONNEY, 2016). As células T reguladoras da resposta imune são suprimidas durante a gravidez permitindo a angiogênese e preservando o feto até o termo sendo ainda essencial na prevenção da autoimunidade e nos eventos de reprodução e gestação (SHARMA, 2014). O equilíbrio entre tolerância maternal e proteção ao feto está relacionada a múltiplos aspectos da ativação imune (BONNEY, 2016).

Com relação à tolerância ao feto uso de substâncias não esteroidais como medicamentos para dor podem induzir efeitos tóxicos a placenta e conseqüentemente ao feto. A exposição das mulheres a estes medicamentos ocorre já na fase pré-concepcional e durante a gravidez (BONNEY, 2016). Os medicamentos prescritos são usados por 26,5 a 96,4% das mulheres grávidas enquanto medicamentos de venda livre esse percentual é de até 90% (SMEDBERG et al., 2016). Devido a carência de dados experimentais em animais que avaliem o risco da exposição a estes medicamentos durante a gravidez, seu uso se faz pela escolha baseada entre o equilíbrio de riscos e benefícios associados a medicação (SMEDBERG et al., 2016). Ainda por motivos éticos a avaliação dos efeitos de medicamentos novos em grávidas e mulheres na idade reprodutiva, não é permitida pelo FDA (*Food and Drug Administration*), órgão regulamentador internacional das regras para uso de alimentos e medicamentos. No entanto, medicamentos consagrados no mercado possuem informações limitadas quanto ao seu uso durante a gravidez (XIA et al., 2013).

O uso de medicamentos durante a gravidez pode ser incondicional, quando há outras doenças já presentes na paciente, ou condicional, dado a eventos que ocorreram durante a gravidez. Entre estes eventos podemos citar as dores musculares, entorses e inflamações, devido contínuas alterações corporais que ocorrem, tais como o ganho de peso e alterações hormonais; com isso, o uso de anti-inflamatórios e analgésicos é muito comum na gravidez (ROSSITTO et al., 2019).

Outros eventos que podem levar a utilização de medicamentos durante a gestação são as infecções. Entre elas, a mais comum é a infecção do trato urinário que,

se não for controlada, pode afetar a saúde da mãe e feto. A razão para a alta probabilidade dessa infecção em grávidas se deve às alterações anatômicas e fisiológicas como o aumento do volume da bexiga e a sua expansão e do ureter expandido (AMIRI et al., 2015). Nestes casos, além do uso de antibióticos, analgésicos e antitérmicos também são utilizados. Portanto, a terapia farmacológica em gestantes é feita com objetivo de controlar os sintomas e evitar efeitos adversos, usando doses de medicamentos que garantam a eficácia e que minimizem a exposição fetal (JEONG, 2010).

Há uma falta de registros na literatura relacionado ao uso experimental de acetaminofeno seus efeitos sobre a fertilidade masculina. E essa falta de registros é ainda maior relacionando a epidemiologia do uso desse medicamento a exposição pré-natal e seus efeitos no sistema reprodutivo feminino (ARENDRUP et al., 2018).

Dentre estes poucos trabalhos até o momento, REEL; LAWTON; LAMB, (1992), estudou o efeito de acetaminofeno em camundongos Swiss. Estes autores relatam que a exposição pré-natal a uma dose alta de acetaminofeno (1430mg / kg / dia) administrado na dieta resultou em redução do peso ao nascer. No entanto, não houve efeito sobre a fertilidade dos camundongos.

Entre os medicamentos que são amplamente utilizados pelas mulheres grávidas, apesar de serem contraindicados pelos fabricantes (vide bulas), encontramos o paracetamol e o ibuprofeno, pois a sua aquisição não depende de receita médica. Deste modo, no sentido de compreender melhor os efeitos destes medicamentos durante a gravidez, nosso grupo realizou em trabalhos prévios, experimentos que indicaram que altas doses de paracetamol e ibuprofeno têm efeito deletério sobre os trofoblastos (principais constituintes placentários) e na conversão de células T reguladoras *in vitro* (HURTADO-GONZALEZ et al., 2018) indicando que estes medicamentos podem interferir nos eventos essenciais da gravidez, começando pela implantação do blastocisto. Porém, ao final deste estudo, ficamos em dúvida sobre os efeitos dos medicamentos na fertilidade das fêmeas, ou seja, efeitos no período pré-concepção, que poderiam influenciar na capacidade de engravidar e/ou manter a gravidez. Portanto, nesta dissertação, decidimos verificar se estes medicamentos interferem *in vivo* com a fertilidade e manutenção da gravidez, quando administrados em fêmeas de camundongos da linhagem Swiss, no período pré-coito.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. *Fertilidade na espécie humana*

A fertilidade natural na espécie humana é baixa comparada com a maioria das espécies. Não é maior que 33% a chance de gravidez por ciclo menstrual e não se deve esperar mais que isto em qualquer tratamento para fertilidade (CAHILL; WARDLE, 2002). Fatores relacionados a fertilidade na mulher incluem: fator tubo peritoneal, fator ovariano, fator uterino, fatores ambientais e comportamentais (BAIRD et al., 2005).

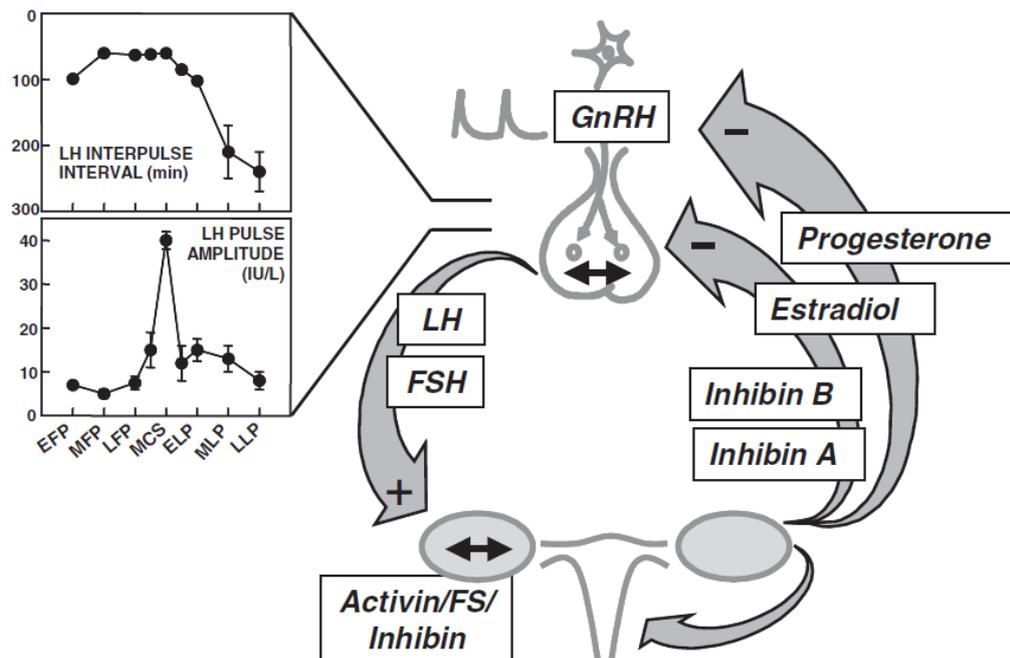
Fecundidade do ciclo natural, ou a chance de um casal em boas condições de saúde de conceber em um determinado mês, é de 20% a 25%. Aproximadamente 10% a 15% dos casais experimentam infertilidade e, após 1 ano tentando engravidar, recomenda-se avaliação da fertilidade (VANDER BORGHT; WYNS, 2018). A infertilidade, na prática clínica, é a falta de concepção após um período arbitrário de 12 meses, sem engravidar com relações sexuais desprotegidas (BAIRD et al. 2002, SCHMIDT et al. 2003). A disfunção endócrina é uma causa significativa de infertilidade devido a amenorreia, útero disfuncional sangramento, e é um problema familiar na população normal. A síndrome do Ovário policístico está presente em 90% das mulheres com oligomenorréia e 30% das mulheres com amenorreia. O bloqueio ou dano nas tubas uterinas (geralmente devido à infecção por clamídia) e aderências envolvendo as trompas ou ovários (devido a cirurgia ou endometriose) ocorrem em cerca de 20% das mulheres atendidas nas clínicas de fertilidade (CAHILL; WARDLE, 2002). Outras causas para infertilidade estão anormalidades genéticas (LUCIFERO; CHAILLET; TRASLER, 2004), as doenças sexualmente transmissíveis podendo resultar em infertilidade tubária (TSEVAT D G, PEIPERT JF WIESENFELD HC, 2017), distúrbios congênitos do útero e fibromiomas, frequentemente assintomáticos, a autoimunidade está subjacente a algumas doenças comuns, especialmente entre as mulheres, e também podem estar associado à perda de gravidez (HENDRIX, ABERNETHY, SLOANE, MISURACA, 2013). Quando tais fatores amplamente distribuídos são identificadas durante a avaliação diagnóstica de casais sub-férteis, é importante distinguir entre uma coincidência associação e uma relação específica com a infertilidade (BAIRD et al., 2002).

Além desses fatores mencionados, a idade, particularmente a da parceira, tem relação com a demora para a concepção em todos os casais e particularmente naqueles que adiaram a mesma para pós trinta anos (BAIRD et al., 2005).

### 2.1.1. Infertilidade feminina

Para que possamos discutir com maior profundidade os problemas relacionados à infertilidade feminina, é necessário que façamos uma pequena revisão sobre o ciclo ovariano, pois sabemos que a capacidade reprodutiva normal na mulher envolve ciclos repetitivos de desenvolvimento folicular, ovulação, desenvolvimento do corpo lúteo e regressão luteal (BUDINETZ et al., 2015).

Esse padrão de ciclos ovulatórios regulares é alcançado através da integração precisa funcional e temporal das funções hipotalâmica, hipofisária e ovárica (figura 1).



**Figura 1** – O sistema reprodutivo opera como um sistema clássico de feedback. A estimulação da secreção de LH e FSH pela hipófise através da liberação pulsátil do GnRH; estimulação da secreção de estradiol ovariano, progesterona e das inibinas pelo FSH e LH; e feedback negativo dos esteroides ovarianos e inibinas sobre o hipotálamo e hipófise. As setas horizontais na hipófise e ovário indicam as ações autócrinas e parácrinas do sistema activina/folistatina/inibina. Os gráficos (insertos) documentam as mudanças dinâmicas no intervalo interpulso e amplitude de LH nas fases inicial (EFP), média (MFP) e tardia (LFP), surto de ciclo médio (MCS), fases lúteas inicial (ELP), média (MLP) e tardia (LLP), do ciclo menstrual. **Fonte:** (Hall 2004b, adaptado de HALL, 2004a)

Resumidamente, o sistema reprodutivo funciona em um modo endócrino clássico iniciado por secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelos neurônios hipotalâmicos no sistema portal hipofisário. O GnRH se liga a receptores específicos nos gonadotrofos na hipófise, através dos quais estimula a síntese e secreção das gonadotrofinas, do hormônio foliculo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH). FSH controla o desenvolvimento folicular e aromatização de

precursores de androgênios nas células da granulosa. O LH é necessário para a síntese desses andrógenos a partir das células da teca no folículo em desenvolvimento e para ovulação e suporte do corpo lúteo (BAERWALD; ADAMS; PIERSON, 2012). Estradiol, inibina B e inibina A são secretados pelos folículos em desenvolvimento, enquanto progesterona, estradiol e inibina A são secretados pelo corpo lúteo. A sinalização endócrina do ovário para o hipotálamo e a hipófise são críticos para a função reprodutiva normal. A secreção de FSH é restringida por estradiol, inibina A e inibina B. A precisão do controle da secreção de FSH é fundamental para o desenvolvimento do oócito maduro único que caracteriza os ciclos reprodutivos humanos. Além de controles de feedback negativo, o ciclo menstrual é único entre os sistemas endócrinos em sua dependência do feedback positivo de estrogênio, para produzir o aumento (surto) do LH pré-ovulatório (GREEN et al., 2017).

O modo pulsátil da estimulação dos gonadotrofo é crítico para a síntese normal de gonadotrofinas. A amplitude e frequência da estimulação pulsátil de GnRH codifica a informação crítica que é responsável, em parte, pela secreção diferencial de LH e FSH, isto é, de importância particular para a função reprodutiva normal na mulher. A secreção de LH é altamente responsiva aos aumentos na dose de GnRH, enquanto este não é o caso para o FSH. Baixas frequências de estimulação pelo GnRH favorecem a síntese de FSH, enquanto frequências mais rápidas estão associadas com aumento dos níveis de LH. (GREEN et al., 2017). As gonadotrofinas são hormônios glicoproteicos compostos de uma subunidade beta específica e uma subunidade alfa, que são comuns não somente para LH e FSH, como também para o hormônio estimulante da tireóide e a gonadotrofina coriônica humana (hCG). A subunidade glicoproteica alfa é também secretada na forma livre, chamada de “*free alpha subunit*” (FAS). Em indivíduos “eutireoideos”, a secreção de FAS é controlada pelo hormônio liberador de tireotrofina, enquanto o GnRH controla a secreção pulsátil de FAS. Tanto o LH como FAS têm sido usados para definir a frequência da secreção pulsátil de GnRH, que é especificamente e dinamicamente modulada durante o curso de um ciclo menstrual normal na mulher jovem (figura 1). Na presença de estrógeno, a progesterona diminui profundamente a frequência de pulsos e isto é um efeito inibitório do sono sobre a frequência de pulsos, sendo mais notável na fase folicular inicial. A amplitude dos pulsos de LH também varia dramaticamente durante o ciclo em resposta a variações na quantidade de GnRH que é secretada e a responsividade da hipófise ao GnRH (TOMS; PAN; LI, 2018).

O declínio na fertilidade se inicia na terceira ou quarta década de vida acelerando rapidamente após os 35 anos em associação com a diminuição na quantidade de folículos. Essa queda do número de folículos e da fertilidade, relacionadas com a idade, é marcada pelo aumento no FSH na fase inicial folicular, antes do aumento no LH ou diminuição no estradiol. A presença de ciclos menstruais regulares e de um aumento no FSH da fase folicular define um estágio reprodutivo chegando ao final. Em uma mulher mais velha, ainda ovulando, o pico de FSH da fase folicular inicial ocorre mais cedo em referência ao estabelecimento da menstruação do que em mulheres mais jovens. O valor do FSH no terceiro dia é largamente utilizado como um indicador do envelhecimento reprodutivo entre os clínicos (SCOGGIN, 2015).

### **2.1.2. Endometriose**

Estima-se que cerca de 30 a 71% das mulheres inférteis têm endometriose e que entre as mulheres com endometriose, 30 a 50% são inférteis. Estes dados sugerem que a endometriose tem um efeito desfavorável sobre a fertilidade podendo afetar várias etapas na reprodução (SCUTIERO et al., 2017; VANDER BORGHT; WYNS, 2018).

Com o avanço das tecnologias de reprodução assistida, especialmente a fertilização *in vitro* (IVF) e injeção de espermatozoides intracitoplasmática (ICSI), o conhecimento sobre os mecanismos de fertilização e implantação aumentou marcadamente, levando a um melhor entendimento dos defeitos de fertilidade que se originam dos gametas e do desenvolvimento inicial embrionário. Numerosas teorias sobre a histogênese da endometriose foram propostas, algumas das quais contraditórias, refletindo as dificuldades em decifrar esta patologia. A hipótese mais popular envolve a menstruação retrógrada, para dentro da cavidade peritoneal e também anormalidades nos mecanismos de vigilância imune, que resultam na implantação e crescimento dos tecidos endometrióticos (DASTUR ADI; TANK, 2010).

A inflamação pélvica na endometriose pode levar à formação de aderências e cicatrizes, interrupção da permeabilidade das trompas de falópio e distorção anatômica do trato do aparelho reprodutor. No entanto, a infertilidade também está associada à endometriose mínima ou leve e, portanto, requer também outros mecanismos fisiopatológicos (MACER; TAYLOR, 2012). Do lado imunológico, a fisiopatologia da endometriose parece estar associada com alterações na imunidade celular e humoral. Por um lado, deficiência na atividade natural das células assassinas

que resulta na remoção inadequada do refluxo de detritos menstruais e, por outro lado, aumento dos níveis de macrófagos, secretando fatores de crescimento e mediadores pró-inflamatórios que estimulam a proliferação celular são encontrados na endometriose. A endometriose está associada a uma inflamação estéril de baixo grau na cavidade peritoneal. Sabe-se que os macrófagos são o tipo de célula imune encontrado em maiores quantidades no líquido peritoneal (GREAVES et al., 2015). Macrófagos peritoneais de mulheres com endometriose apresentam maior atividade, resultando em maior fagocitose e secreção de várias substâncias solúveis, por exemplo, enzimas proteolíticas, citocinas, prostaglandinas e fatores de crescimento. Os componentes do complemento C3 e C4, mediadores de respostas do hospedeiro à inflamação, também aumentam no líquido peritoneal de mulheres com endometriose. Esses produtos secretórios foram indiretamente implicados como afetando adversamente a fertilidade e também estimulando a implantação e proliferação de células endometriais. Ocorre também um aumento dos níveis de citocinas associado à menstruação ovulação, implantação e amadurecimento cervical. Parece que uma inflamação oportuna necessária para muitos eventos fisiológicos se torna patológica na endometriose por causa de sua presença contínua (THIRUCHELVAM; WINGFIELD; O'FARRELLY, 2015).

### **2.1.3. Infertilidade masculina**

Em relação aos problemas masculinos, foi aventado que o estresse oxidativo pode ser uma causa potencial para a infertilidade masculina. Sob condições fisiológicas, o espermatozoide produz pequenas quantidades de espécies reativas de oxigênio (ROS), que são necessárias para a capacitação, reação do acrossoma e fertilização. Entretanto, a produção de grandes quantidades de ROS produzidas pelos leucócitos e espermatozoides imaturos podem causar danos ao espermatozoide normal por induzir a peroxidação lipídica e danos ao DNA (WAGNER; CHENG; KO, 2018).

Normalmente existe um equilíbrio entre a produção de ROS e as atividades de eliminação de antioxidantes no trato reprodutivo masculino. Contudo, a produção excessiva de ROS no sêmen pode superar os mecanismos de defesa antioxidante do espermatozoide e plasma seminal, causando o estresse oxidativo. O plasma seminal contém uma variedade de antioxidantes que atuam como sequestradores de radicais livres para proteger os espermatozoides contra o estresse oxidativo (AGARWAL et al.,

2004). Esse mecanismo de defesa compensa a perda de enzimas citoplasmáticas do esperma que ocorre quando o citoplasma é extrudido durante a espermiogênese, que por sua vez, diminui os mecanismos de reparo endógenos e defesas enzimáticas. O plasma seminal contém várias enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. Além disso, contém uma variedade de antioxidantes não enzimáticos, como vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), piruvato, glutathione e carnitina (AGARWAL; SALEH; BEDAIWY, 2003).

Altas concentrações de ROS podem ser detectados no sêmen de 30 a 80% dos homens inférteis. Sabe-se que o estresse oxidativo seminal no trato reprodutor masculino resulta em dano peroxidativo da membrana plasmática do espermatozoide e perda de sua integridade do DNA. Normalmente, existe um equilíbrio entre concentrações de espécies reativas de oxigênio e sistemas de eliminação de antioxidantes. Uma das estratégias racionais para combater o estresse oxidativo é aumentar a capacidade de eliminação do plasma seminal. É possível identificar e tratar as causas da produção aumentada de ROS, por exemplo por infecções no trato reprodutivo, fumo ou varicocele (SALEH et al., 2003). Entretanto, os resultados de estudos clínicos usando antioxidantes para o tratamento da infertilidade masculina são controversos, principalmente devido às muitas variáveis envolvidas (AGARWAL et al., 2004).

Estudos *in vitro* demonstraram que a vitamina E, como antioxidante, é efetiva em proteger a motilidade do espermatozoide e sua morfologia, por suprimir a peroxidação lipídica. Sua administração, *in vivo*, por via oral (300 mg duas vezes ao dia) também melhorou a motilidade do esperma. A vitamina C, principal antioxidante no plasma seminal do homem fértil, pode preservar a motilidade de forma dose dependente até 1000  $\mu\text{mol/l}$ . Em doses mais altas a vitamina C tem um efeito paradoxo, aumentando a produção de ROS na presença de cátions catalíticos, tais como ferro. Em pacientes fumantes, a administração de vitamina C, via oral, foi benéfica na qualidade do esperma. Glutathione e albumina também agem como antioxidantes, assim como a enzima antioxidante superóxido-dismutase. Além disso, a combinação da vitamina E (200 mg/dia), vitamina C (200 mg) e glutathione (400 mg) para pacientes inférteis, durante 2 meses, resultou em uma melhora significativa na concentração do esperma (MOSLEMI; TAVANBAKHS, 2011). A dosagem dos antioxidantes é crítica porque os ROS também são necessários para funções fisiológicas normais. Assim, um excesso de antioxidantes pode inibir a função do

esperma. Entretanto, a quantidade mínima de ROS necessária fisiologicamente não é conhecida (AGARWAL et al., 2004).

## **2.2. Fisiologia da gravidez na fase inicial (embriogenese)**

De maneira geral, a fertilização se dá da união de um óvulo e um espermatozoide. Após a fertilização, o zigoto passa por várias rodadas de divisões e morfogênese para formar o blastocisto, um estágio embrionário com duas linhagens celulares distintas: o epitélio trofocodérmico especializado externo, e a massa celular interna (CONDIC, 2014). A implantação deste blastocisto é um requisito absoluto para a reprodução, começando com a aposição do blastocisto no endométrio uterino, seguido de sua ligação ao epitélio da superfície endometrial. A implantação só pode ocorrer em um útero receptivo. Nos seres humanos, o útero se torna receptivo durante a fase intermediária (dias 19 a 23) do ciclo menstrual, comumente conhecido como janela de implantação. Portanto, deve haver sincronização entre o implante do blastocisto e um útero receptivo. Os roedores exibem um ciclo estral relativamente curto (4 dias) e desenvolvem um útero receptivo no dia 4 após o acasalamento (CALIGIONI, 2009).

A fertilização ocorre na trompa de Falópio em 24 a 48 horas de ovulação. Os estágios iniciais de desenvolvimento, do óvulo fertilizado (zigoto) a uma massa de células (mórula), ocorrem quando o embrião passa pelas tubas uterinas envolto por um revestimento protetor não adesivo conhecido como zona pelúcida. A mórula entra na cavidade uterina aproximadamente 2 a 3 dias após a fertilização. Os estágios iniciais do desenvolvimento embrionário e uterino, separados espacialmente, devem ser coordenados temporalmente para que a gravidez ocorra. Uma vez que o blastocisto emerge da zona pelúcida, aproximadamente 6 dias após a fertilização, as células embrionárias e maternas entram em um diálogo complexo que permite a implantação, um processo que rapidamente sequestra o embrião humano dentro da parede uterina (CALIGIONI, 2009).

O implante, a placentação, e o primeiro e o segundo trimestre da gravidez, necessitam de uma forte resposta inflamatória. Durante esse primeiro estágio, o blastocisto precisa romper o revestimento epitelial do útero para implantar e danificar o tecido endometrial para invadir o endométrio. Em seguida, vai ocorrer a substituição de trofoblastos do endotélio e da musculatura lisa vascular dos vasos sanguíneos maternos, a fim de garantir um suprimento sanguíneo placentário-fetal adequado.

Nestes processos, observa-se um ambiente inflamatório local para garantir o reparo adequado do epitélio uterino e a remoção de detritos celulares (FISHER, 2010).

A perda precoce da gravidez, que ocorre durante o período peri-implantacional, antes da gravidez ser reconhecida clinicamente, é um fenômeno relativamente comum em humanos (COCKBURN et al., 2010). Entre as gestações perdidas, a falha de implantação é a principal causa, atingindo aproximadamente 75% das mulheres (ZHANG et al., 2014).

Embora a gestação envolva um processo contínuo, ela é dividida em três períodos de três meses (Tabela 1), chamados de trimestres (semanas 0 à 12, 13 à 24, e 25 ao parto). Os acontecimentos que envolvem a fecundação até 12<sup>a</sup> semana de gestação compreendem o período da organogênese, no qual se completa a formação dos diferentes aparelhos e sistemas do feto. Nessa fase é importante evitar a exposição a agentes químicos e físicos.

**Tabela 1. Estágios de desenvolvimento fetal.**

Eventos	Semana	Eventos	Semana	Eventos	Semana
Ocorre a última menstruação da mulher antes da fertilização.	0	O sexo do feto pode ser identificado. O feto consegue ouvir.	14 <sup>a</sup>	O feto está ativo, mudando de posição com frequência.	25 <sup>a</sup>
A fertilização ocorre. O óvulo fertilizado (zigoto) começa a se desenvolver e forma uma esfera oca de células chamada de blastocisto.	2 <sup>a</sup>	Os dedos do feto conseguem segurar. O feto se move vigorosamente e a mãe pode senti-lo. O corpo do feto começa a ganhar peso conforme a gordura se deposita sob a pele. Surgem cabelos e pelos.	16 <sup>a</sup>	Os pulmões continuam a amadurecer.	25 <sup>a</sup>
O blastocisto se implanta na parede do útero. A bolsa amniótica começa a se formar.	3 <sup>a</sup>	A placenta está totalmente formada.	20 <sup>a</sup>	A cabeça do feto se move para a posição do parto.	25 <sup>a</sup>
A área que se tornará o cérebro e a medula espinhal (tubo neural) começa a se desenvolver.	5 <sup>a</sup>	O feto tem chance de sobreviver fora do útero. A mulher começa a ganhar peso mais rapidamente.	24 <sup>a</sup>	Em média, o feto tem 50 cm de comprimento e pesa aprox. 3 Kg. O abdômen aumentado da mulher faz o umbigo saltar.	25 <sup>a</sup>
O coração e os principais vasos sanguíneos estão se desenvolvendo. Os batimentos cardíacos podem ser vistos na ultrassonografia.	6 <sup>a</sup>	-	-	Parto.	37 <sup>a</sup> -42 <sup>a</sup>
Surgem os inícios de braços e das pernas.	7 <sup>a</sup>	-	-	-	-
Os ossos e os músculos se formam. O rosto e o pescoço se desenvolvem. As ondas cerebrais podem ser detectadas. O esqueleto se forma. Os dedos das mãos e pés estão totalmente definidos.	9 <sup>a</sup>	-	-	-	-
Os rins começam a funcionar. Quase todos os órgãos estão totalmente formados. O feto pode se mover e responder ao toque (quando cutucado através do abdômen da mulher). A mulher ganhou algum peso e seu abdômen pode estar levemente maior.	10 <sup>a</sup>	-	-	-	-

Fonte: BROWN, 2016

Evidências epidemiológicas sugerem que apenas 30% de todas as concepções são reconhecidas clinicamente. Sendo que a maioria delas é perdida espontaneamente. Além disso, na reprodução assistida, apesar do fato de que embriões de alta qualidade morfológica estão sendo transferidos, as taxas de gravidez são muito baixas. Observações clínicas sugeriram que falhas de implantação são a principal causa da perda destes bebês na reprodução assistida. Durante o implante de embriões, na cavidade uterina ocorre uma alteração sincronizada no endométrio, antes e após a chegada do blastocisto. Tradicionalmente, tem sido assumido que o endométrio receptivo é um tecido passivo que deve implantar prontamente um embrião. Entretanto, várias evidências experimentais confirmaram que durante a implantação ocorre extensiva troca de informações entre os compartimentos fetal e maternal (LOPES et al., 2011).

O endométrio, o revestimento interno do útero, é composto por células epiteliais, células estromais (a maior parte desta população), células imunes e células endoteliais que compõem a vasculatura. As células epiteliais do útero são de duas variedades. As células epiteliais da luz margeiam o lúmen do útero. Outras se irradiam para o estroma endometrial em direção à base do miométrio para formar as glândulas uterinas. Todo o endométrio sofre ciclicamente remodelação dinâmica sob rigorosa regulamentação hormonal para reabastecer sua população, garantindo assim sua saúde (GELLERSEN; BROSENS, 2014).

Uma das principais funções do endométrio é implantar o embrião e nutri-lo para manter a gravidez. Paradoxalmente, o endométrio é refratário à implantação do embrião através do ciclo menstrual, exceto por uma pequena janela. Sabe-se que apesar do embrião conseguir invadir quase todos os tecidos, esta facilidade não ocorre no útero. Entretanto, quando acontece do epitélio luminal do endométrio ser lesado, o embrião pode se implantar mesmo na ausência de hormônios, sugerindo que o epitélio endometrial é uma barreira para a implantação. Para sobreviver, o embrião precisa invadir o endométrio. Durante a implantação, o embrião tenta garantir sua sobrevivência, agredindo o endométrio e modificando as estruturas das células estromais. Além disso, precisa superar o sistema imunológico letal da mãe para não ser reconhecido como corpo estranho (ASHARY; TIWARI; MODI, 2018).

No ciclo endometrial, a fase em que o embrião pode se implantar é denominada “janela de receptividade”. Acontecendo após ações sequenciais do

estrogênio e progesterona, esta janela dura de 3 a 5 dias na maioria dos primatas e poucas horas nos roedores (YOSHINAGA, 2018).

#### **2.4. Efeitos de medicamentos na fertilidade humana**

O tratamento crônico com paracetamol prejudica a competência sexual e a fertilidade de ratos machos, o uso a longo prazo em doses terapêuticas pode afetar a fertilidade e também a diminuição da libido (AKSU et al., 2016).

Estudos indicam que o uso de paracetamol em gestantes é muito frequente, chegando a 80% mais da metade das mulheres grávidas no mundo ocidental relatam ingestão de analgésicos leves, e algumas dessas drogas foram associadas a efeitos anti-androgênicos em experimentos com animais (MCINERNEY et al., 2017).

Os analgésicos leves (denominados analgésicos), que incluem os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) e acetaminofeno/paracetamol (N-acetil-para-aminofenol; APAP), usados classicamente para aliviar a dor, febre e mal-estar, e por isso são os medicamentos mais usados durante a gravidez. APAP e os AINEs são capazes de atravessar a placenta e as mães nem sempre estão conscientes do início da gravidez e na maioria das vezes não identificam analgésicos como drogas (ARENDRUP et al., 2018).

Há evidências de que as prostaglandinas desempenham um papel importante na ovulação, especificamente no processo de ruptura e colapso folicular. Foi demonstrado que a administração de anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) bloqueiam a síntese de prostaglandinas (PGs), inibem a ovulação, evitam o colapso folicular e produzem outros efeitos semelhantes aos observados na síndrome folicular não rompida luteinizada diminuindo a fertilidade (MICU; MICU; OSTENSEN, 2011).

Paracetamol (acetaminofeno), ácido acetilsalicílico (aspirina) e ibuprofeno são analgésicos leves amplamente utilizados e são medicamentos de venda livre para alívio da dor, comumente usados por mulheres em idade reprodutiva.

As características estruturais sugerem que o paracetamol pode possuir atividade agonista ou antagonista de esteroides sexuais, devido ao seu anel fenol e grupo acetil respectivamente, também possui ação inibitória leve na síntese de prostaglandinas nos tecidos periféricos podendo por isso, alterar a libido e fertilidade (MCINERNEY et al., 2017).

Ainda, a associação entre a exposição intra-uterina ao paracetamol e analgésicos leves sugerem ao criptorquidismo congênito, um fator de risco grave para comprometimento reprodutivo (HOLM et al., 2016). Ainda esses mesmos autores

evidenciaram que a diminuição na fertilidade se deve a uma redução no número de células germinativas embrionárias que possivelmente foi ocorrido antes da diferenciação das células germinativas primordiais em gonócitos, isso se torna preocupante, pois a dose mais baixa administrada de paracetamol usada (50 mg/kg/dia de paracetamol) é a mesma que a dose permitida para mulheres grávidas.

O ibuprofeno é um ácido propiônico e um dos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) que tem efeitos analgésicos e antipiréticos. Ele e outros AINEs são ingeridos por várias razões, como febre, resfriado, gripe, dores em geral e artrite reumatóide. Esses fármacos inibem a atividade das ciclooxigenases (COX1 e COX2), que sintetizam e liberam prostaglandinas (PGs) (ROODBARI; ABEDI; TALEBI, 2015).

Os PGs são essenciais para a reprodução, pois os aumentos pré-ovulatórios nos níveis de PG facilitam a ovulação e implantação (MCINERNEY et al., 2017).

## **2.5. Uso de medicamentos durante a gravidez**

As gestantes podem apresentar problemas de saúde, ou sintomas referentes a própria gravidez que levam ao uso de medicações com ou sem orientação médica. No entanto, por motivos éticos metodologias para estudo de risco do uso de fármacos durante a gestação e suas influências sobre o feto são limitadas.

Medicamentos podem ocasionar danos tanto para a gestante quanto para o feto. Os riscos são potencialmente aumentados durante o primeiro trimestre gestacional devido à formação de basicamente todas as estruturas anatômicas e fisiológicas do feto, o que pode provocar malformações e aborto (NORDENG, YSTRØM, AND EINARSON 2010, SMEDBERG et al. 2016). A gravidez é um sistema fisiológico complexo. Estudos mecanísticos extensos e análise correlativa de dados *in vitro* e *in vivo* são necessários para a previsão precisa de alterações farmacocinéticas durante esse período (JEONG, 2010).

Os medicamentos mais comuns utilizados na gravidez são sem receitas médicas e por isso largamente utilizados durante a gravidez, em especial para o manejo dos sintomas comuns durante a gestação. A utilização de medicamentos durante gravidez se integra a alguns problemas de saúde maternos, dentre os quais se destaca o diabetes mellitus, diabetes gestacional, hipertensão arterial sistêmica, cardiopatias, asma, toxoplasmose, sífilis, hipertireoidismo, alterações nos sistemas renal, hepático e ginecológico (ENGELAND et al., 2018).

Durante décadas os medicamentos foram largamente utilizados durante a gravidez, como por exemplo, a talidomida, comercializada em alguns países do

mundo, com exceção de França e Estados Unidos da América (EUA) onde não foi permitido pelos órgãos reguladores. Em 1957 começaram os relatos de recém-nascidos com malformações do tipo focomelia, sendo que em 1961-1962 a talidomida foi retirada do mercado mundial. (PAPASEIT; GARCÍA-ALGAR; FARRÉ, 2013). A tragédia da talidomida obrigou as autoridades governamentais terem normas e regulamentos que garantam a segurança do uso dos medicamentos (farmacovigilância), em 1975 o *Food and Drug Administration* (FDA) criou a classificação das categorias A, B, C, D, X para o uso de medicamentos na de acordo com os riscos para sua utilização.

#### **2.4.1. Classificação de risco dos medicamentos para uso na gravidez**

Desde 1979, uma nomenclatura padrão de cinco letras desenvolvida pela FDA dos EUA tem sido usada para atribuir uma categoria de risco de gravidez a medicamentos prescritos e vendidos sem receita: Porém, em resposta às críticas e questionamentos contínuos em relação a natureza confusa e simplista deste sistema, em 2011, o FDA propôs uma nova regra para rotulagem que visa fornecer dados de segurança mais detalhados sobre o uso na gravidez e, por sua vez, melhorar a tomada de decisão clínica (MOSLEY II; SMITH; DEZAN, 2015). A nova regra divide as informações em categorias de gravidez e amamentação, cada uma com as subcategorias de resumo de riscos, considerações clínicas e dados. O sistema de cinco letras e o novo sistema estão disponíveis desde 2005. São elas:

Categoria A: refere a substâncias e medicamentos para as quais pesquisas controladas em mulheres não têm apresentado ameaça para o feto durante o primeiro trimestre, não ocorrendo nenhuma prova de risco em trimestres posteriores, tornando-se bastante remota a possibilidade de dano fetal.

Categoria B: estudos em animais não demonstraram um risco fetal, mas não há estudos controlados no humano. Pode-se considerar os medicamentos e substâncias incluídas nessa categoria como de prescrição com cautela.

Categoria C: não há pesquisas controladas na mulher, ou elas não são disponíveis em mulheres e animais. Essas drogas somente deverão ser administradas se o benefício esperado justificar o potencial de risco para o feto. Pode-se considerar os medicamentos e substâncias incluídas nessa categoria como de prescrição com risco.

Categoria D: há evidências de riscos para o feto humano, mas os benefícios do uso na gestante podem justificá-los (exemplo: se o medicamento for necessário em uma situação de risco iminente, ou para uma doença grave quando não existem outros medicamentos mais seguros, ou se forem ineficazes). Pode-se considerar os medicamentos e substâncias incluídas nessa categoria como de prescrição com alto risco.

Categoria X: estudos em animais e humanos mostraram anormalidades fetais. O perigo supera nitidamente qualquer possível benefício. Os medicamentos e substâncias desse tipo são contraindicados em mulheres grávidas e são classificados como de prescrição com risco (contraindicada).

A Tabela 2 descreve os riscos que alguns analgésicos e antipiréticos oferecem durante a gravidez.

**Tabela 2. Riscos do uso de analgésicos e antipiréticos na gravidez.**

Medicamento	Classe	Categoria de risco na gravidez	Atravessa a placenta	Uso na gravidez
Acetaminofen	Analgésico/Antipirético não-narcótico	B	Sim	Medicamento de escolha
Aspirina	Salicilato Analgésico/Antipirético	C no primeiro e segundo trimestres; D no terceiro trimestre	Sim	Deve ser evitado na gravidez, a não ser quando houver indicação médica
Naproxen	Analgésico do tipo AINE	B no primeiro e segundo trimestres; D no terceiro trimestre	Sim	Deve ser evitado no terceiro trimestre
Ibuprofeno	Analgésico do tipo AINE	C no primeiro e segundo trimestres; D no terceiro	Sim	Deve ser evitado no terceiro trimestre

**AINE:** anti-inflamatórios não-esteroidais. **Fonte:** (GODERSKY, et al., 2017)

Em relação às categorias de risco do uso de medicamentos, segundo a FDA, nota-se ainda um maior consumo das classes A, B e C, representadas por medicamentos para distúrbios do funcionamento gastrointestinal e preparações antianêmicas. Há também o risco pelo consumo de anticoncepcionais orais por mulheres que não planejaram a gestação (NORDENG; YSTRØM; EINARSON, 2010). Alguns profissionais fornecem prescrições medicamentosas para o manejo dos sinais e sintomas comuns da gestação, o que permite à mulher maior acesso aos medicamentos. Essas prescrições podem ser importantes, nos casos de real

necessidade. No entanto, deve haver boa orientação quanto ao uso correto dos medicamentos.

Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) estão entre os medicamentos mais comuns usados por mulheres grávidas. Os dados publicados são controversos em relação à segurança fetal após exposição intra-uterina ao AINE, nesse estudo a exposição intra-uterina ao AINE não foi associada ao aumento do risco de grandes malformações congênitas. Mais estudos são necessários para avaliar o risco de malformações após a exposição a inibidores seletivos da COX-2 (HOLM et al., 2016).

Outros estudos mostraram que o uso de indometacina no parto prematuro, como agente tocolítico, pode aumentar a incidência de hemorragia intraventricular (HIV), no feto de grau I e II (SUAREZ RD, GROBMAN WA, 2001). Há ainda estudos que mostram que o ácido salicílico, o ibuprofeno, o cetoprofeno e o diclofenaco, podem causar efeitos adversos, como malformação ou constrição do canal arterial, quando utilizados durante a gravidez. Para minimizar os riscos dos AINEs para a grávida e o feto, é importante entender o mecanismo de sua permeação na placenta. Embora o mecanismo ainda seja motivo de investigação em detalhes, espera-se que os AINEs interajam com os transportadores de monocarboxilato (MCTs) e/ou outros transportadores de ânions orgânicos (OATs), uma vez que possuem uma porção carboxila (MURAKAMI et al., 2005).

Além dos problemas de malformação, dados recentes em animais sugeriram que doses terapêuticas de paracetamol podem afetar a cognição e comportamento dos ratos (PICKERING et al., 2016). Em estudos recentes da análise da fecundidade do casal e com a concentração urinária do paracetamol, se concluiu que há mais necessidade de pesquisas para elucidar se há alterações nesse mecanismo (MCINERNEY et al., 2017).

Já nos modelos experimentais, em um estudo recente, sugere-se que os analgésicos comumente tomados por mulheres durante a gravidez, diminuem o número de células germinativas e o tamanho do ovário na prole F1 no rato, e o tamanho ovariano e o número de folículos em fêmeas F2 “netas” (DEAN et al., 2016), porém, faz-se necessário a avaliação da relevância humana desses achados, por meio de estudos epidemiológicos prospectivos, utilizando novos marcadores de número/reserva de oócitos, como o hormônio anti-muelleriano (AMH) (DEWAILLY et al., 2014).

Dewailly et al., 2014, em análise *ex vivo mostrou que* ibuprofeno, um inibidor não seletivo da COX, induz uma proliferação celular diminuída e um aumento da morte celular nos ovários fetais humanos do primeiro trimestre, principalmente devido aos efeitos nas células germinativas fetais. Além disso, uma exposição de 2 a 7 dias ao ibuprofeno, em concentrações relevantes para condições no útero afetam o estoque de células germinativas nos ovários fetais humanos no primeiro trimestre da gravidez. Corroborando com este estudo, outros pesquisadores também sugerem que a exposição prolongada ao ibuprofeno durante a vida fetal pode levar a efeitos em longo prazo na função reprodutiva feminina (LEVERRIER-PENNA et al., 2018).

### **3. HIPÓTESE**

A exposição de fêmeas Swiss ao paracetamol e Ibuprofeno durante o pré-acasalamento resulta em alterações na fertilidade e no número de filhotes

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito dos medicamentos na fertilidade de camundongos fêmeas Swiss.

#### **4.2. Objetivos específicos**

Avaliar os efeitos do tratamento de paracetamol e ibuprofeno sobre a fertilidade dos camundongos;

Avaliar o efeito do paracetamol e ibuprofeno no número de filhotes de fêmeas da linhagem Swiss;

Avaliar se os fármacos utilizados no estudo produzirão diferenças anatômicas no útero dos camundongos fêmeas.

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1. Camundongos e comitê de ética animal**

Todos os procedimentos foram executados seguindo as diretrizes e normas do CONCEA, que foram avaliadas e aprovadas pelo comitê de ética em experimentação animal (nº 494-2018). A pesquisa experimental utilizou-se de camundongos Swiss isogênicos. Sendo utilizados por experimento, 5 camundongos fêmeas da linhagem *Swiss*, com 4 semanas de idade. No total foram 34 fêmeas, 8 controle, 8 tratadas com pbs, 9 tratadas com paracetamol e 9 com ibuprofeno, em um experimento e em outro independente foram 40 fêmeas, 10 controle, 10 tratadas com pbs, 10 tratadas com paracetamol e 10 com ibuprofeno. Todos os camundongos utilizados foram criados em condições livres de patógenos específicos, mantidos em racks ventiladas (Alesco Ltda., Brasil).

### **5.2. Tratamentos dos animais com ibuprofeno e paracetamol**

As doses utilizadas de paracetamol ou ibuprofeno foram calculadas de acordo com doses preconizadas para camundongos (CARPENTER, 2010). De acordo com estes protocolos, os camundongos foram tratados com paracetamol (370 mg/kg) ou com ibuprofeno (5 mg/kg). Cada solução foi preparada com PBS estéril e suas alíquotas foram congeladas a -20 °C até o uso. O volume de solução preparado para cada camundongo fêmea foi de 0,5 ml, administrado por gavagem. Esses tratamentos foram realizados por dois períodos de 5 dias, com intervalo de 2 dias entre eles. Durante todo o período experimental, não observamos diferenças de peso ou comportamentais nos animais.

### **5.3. Avaliação da fertilidade após os tratamentos**

Dois dias após o último período de tratamento, todas as fêmeas foram acasaladas com machos, durante um período de 5 dias, com remoção dos machos após este período. Estas fêmeas foram então eutanasiadas 10 dias após a remoção dos machos, correspondendo a uma gravidez nos dias 10 a 14. Em alguns experimentos, as fêmeas foram mantidas até o prazo de nascimento dos filhotes. Em cada grupo foram avaliadas a proporção de fêmeas grávidas, o número de fetos ou filhotes, e a quantidade de reabsorções fetais espontâneas.

#### **5.4. Análise estatística**

Para comparação dos resultados obtidos entre os 4 grupos testados (Controle, PBS, ipuprofeno e paracetamol), testes de análises de variância (ANOVA), com correção de Tukey, foram aplicados para verificar diferenças significativas. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . Todos os gráficos e cálculos foram realizados no programa Prism Graphics 5.0 (GraphPad Software Inc., EUA) e representam dados adquiridos em pelo menos 2 experimentos independentes.

## 6. RESULTADOS

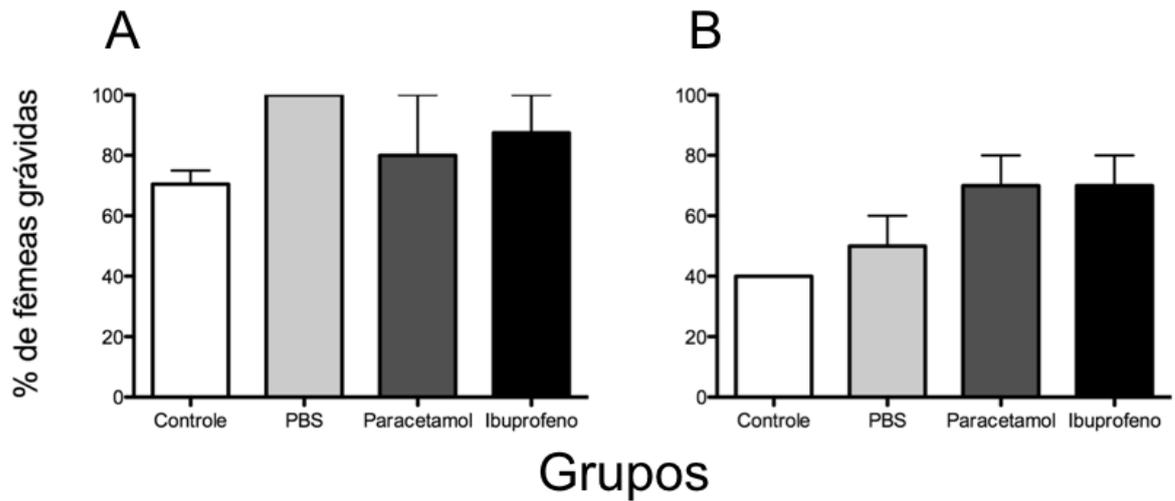
### 6.1. *Efeito dos medicamentos sobre a fertilidade de fêmeas da linhagem swiss.*

Os resultados demonstram que não houve diferenças entre as proporções de fêmeas grávidas em todos os grupos testados (Figura 2, A e B). Assim, camundongos pré-tratados com paracetamol ou ibuprofeno não apresentam efeito mensurável na sua fertilidade. Por outro lado, a proporção de fêmeas grávidas é uma das medidas utilizadas para avaliar os efeitos da fertilidade do paracetamol e do ibuprofeno. A fertilidade em camundongos também está relacionada com o número de fetos que essas fêmeas podem transportar em seu útero. Esses parâmetros, foram analisados nesse estudo mensurando-se esses números, bem como o número de reabsorções fetais espontâneas em grupos experimentais.

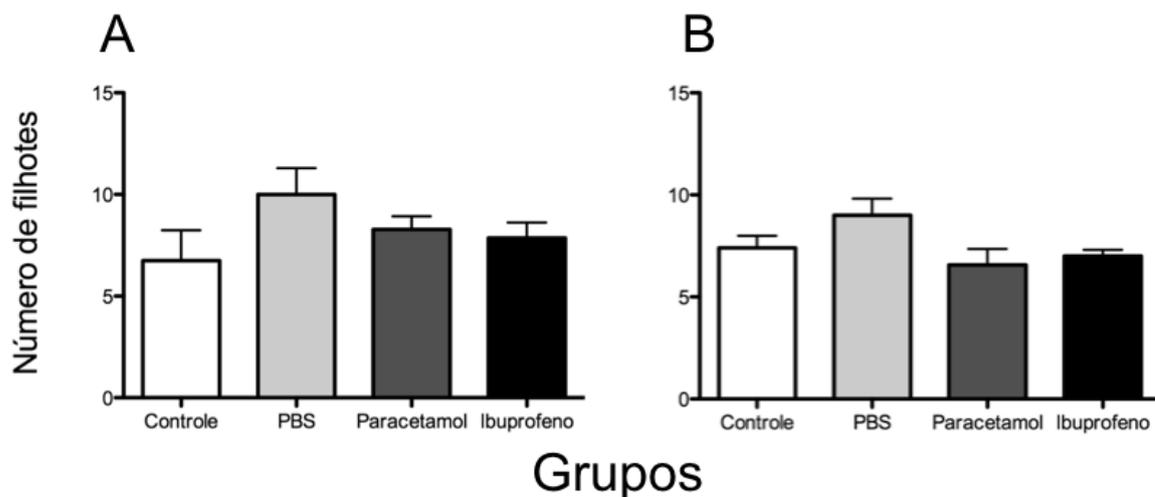
O número de fetos por fêmeas não foi diferente entre os grupos (Figura 3, A e B, ANOVA:  $F_{3, 19} = 1,56$ ,  $p = 0,232$ ). Além disso, também não foram observadas diferenças no número de reabsorções fetais (ANOVA:  $F_{3, 19} = 1,543$ ,  $p = 0,236$ ), conforme ilustrado na Figura 4. Novamente, esses resultados indicam que o pré-tratamento de camundongos fêmeas com paracetamol ou ibuprofeno não teve efeito sobre a fertilidade dos camundongos.

Outro fator também observado foi o útero das fêmeas não-grávidas e que foram tratadas ou não com paracetamol e ibuprofeno (Figura 5). Novamente, não houve diferenças em termos de anatomia deste órgão, a não ser aquelas esperadas pela fase do ciclo do estro em que se encontram as fêmeas estudadas.

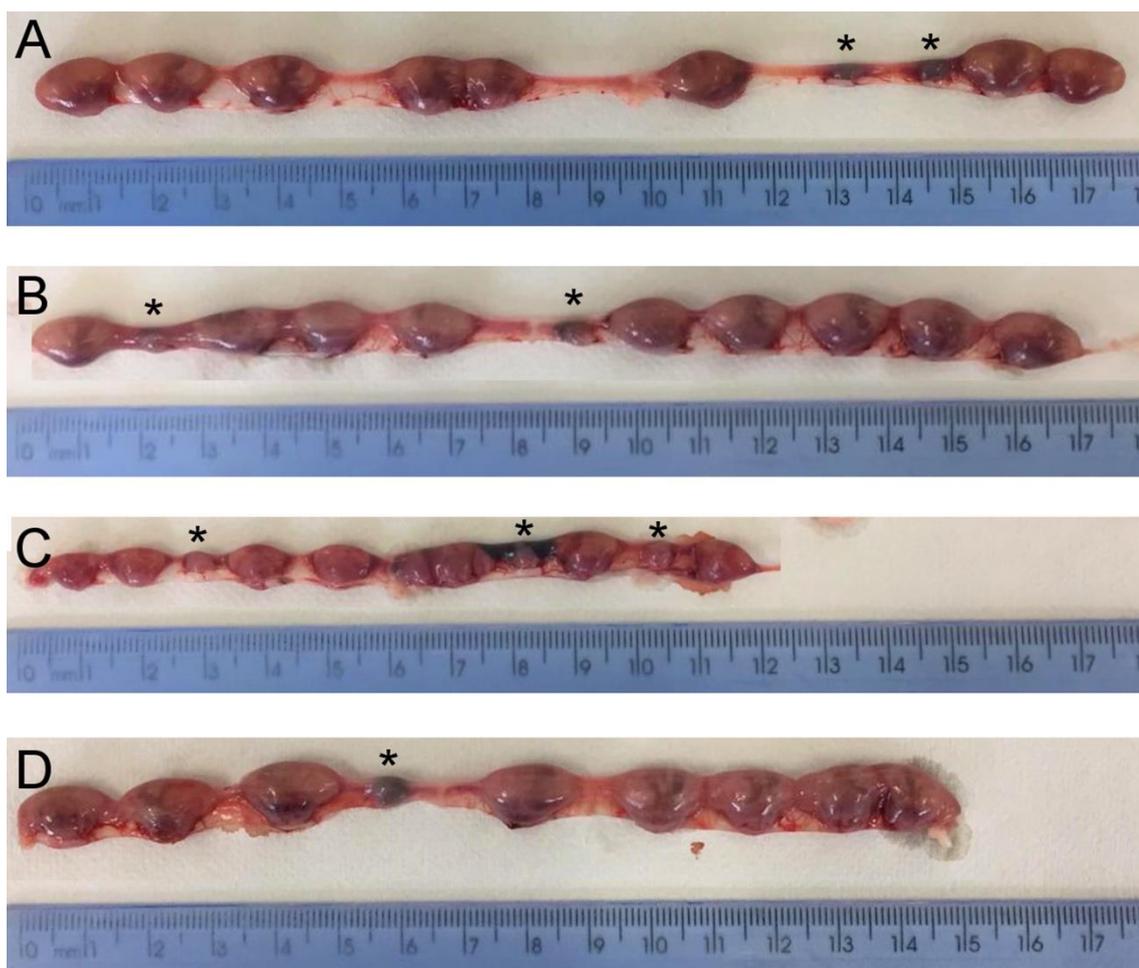
Por fim, fetos e placentas abortados que foram encontrados em quaisquer um dos grupos examinados (PBS, paracetamol ou ibuprofeno), possuem um menor tamanho e uma coloração mais pálida em comparação aos fetos e placentas de gestações normais (Figura 6A versus 6B, respectivamente).



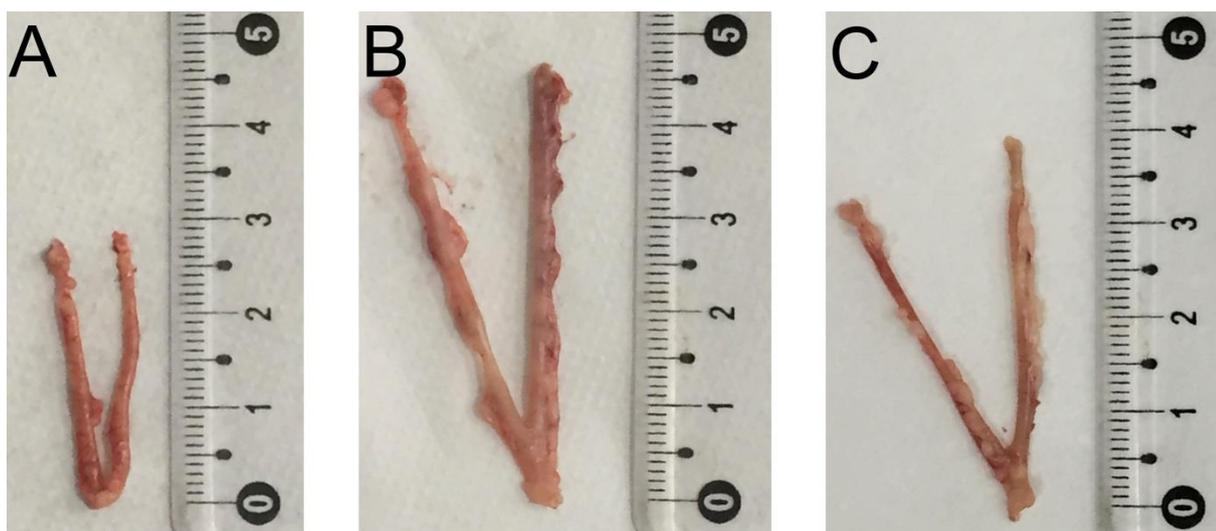
**Figura 2.** Efeito do paracetamol e do ibuprofeno na porcentagem de fêmeas grávidas da linhagem de camundongos Swiss. Grupos de 5 fêmeas Swiss foram tratados por gavagem, ou não (“*Controle*”), com paracetamol ou ibuprofeno, por dois períodos de 5 dias, com intervalo de 2 dias entre estes períodos. Alguns animais receberam apenas o veículo dos medicamentos (PBS), pela mesma via e no mesmo período de tempo dos animais tratados com medicamentos. A porcentagem de fêmeas que estiveram grávidas foi determinada pelo número de fêmeas com filhotes ou que tinham embriões em seus úteros (A), ou pelo número de fêmeas com embriões em seus úteros (B), no total de fêmeas em cada grupo. Estes resultados correspondem a duas repetições independentes. Não houve diferença entre os grupos avaliados ( $p > 0,05$ ).



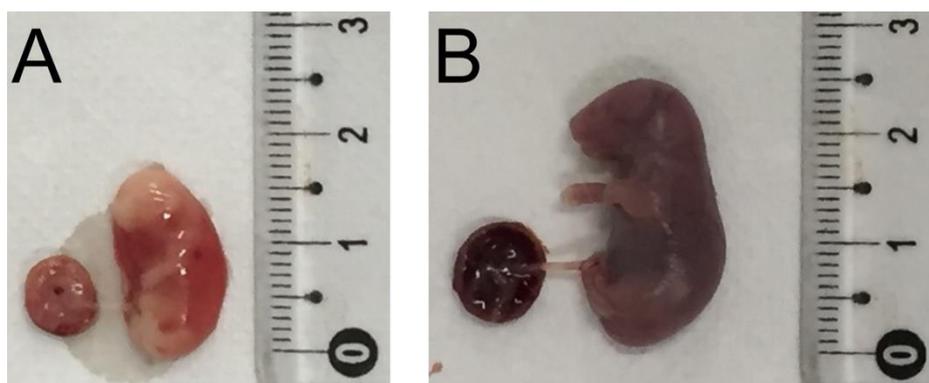
**Figura 3.** Efeito do paracetamol e do ibuprofeno no número de filhotes por fêmeas da linhagem de camundongos Swiss. Grupos de 5 fêmeas Swiss foram tratados por gavagem, ou não (“*Controle*”), com paracetamol ou ibuprofeno, por dois períodos de 5 dias, com intervalo de 2 dias entre estes períodos. Alguns animais receberam apenas o veículo dos medicamentos (PBS), pela mesma via e no mesmo período de tempo dos animais tratados com medicamentos. A média de filhotes por fêmeas grávidas foi determinada pela contagem do número de filhotes nascidos ou embriões viáveis (A), ou pelo número de embriões viáveis (B). Estes resultados correspondem a duas repetições independentes. Não houve diferença entre os grupos avaliados ( $p > 0,05$ ).



**Figura 4.** Anatomia dos úteros de camundongos prenhes da linhagem Swiss. Grupos de 5 fêmeas Swiss foram tratados por gavagem, ou não (“*Controle*”), com paracetamol ou ibuprofeno, por dois períodos de 5 dias, com intervalo de 2 dias entre estes períodos. Alguns animais receberam apenas o veículo dos medicamentos (PBS), pela mesma via e no mesmo período de tempo dos animais tratados com medicamentos. (A) útero de animal sem tratamento; (B) útero de animal que recebeu veículo; (C) útero de animal tratado com Paracetamol; (D) útero de animal tratado com ibuprofeno.



**Figura 5.** Anatomia dos úteros de camundongos da linhagem Swiss virgens. Grupos de 5 fêmeas Swiss foram tratados por gavagem, ou não (“*Controle*”), com paracetamol ou ibuprofeno, por dois períodos de 5 dias, com intervalo de 2 dias entre estes períodos. Alguns animais receberam apenas o veículo dos medicamentos (PBS), pela mesma via e no mesmo período de tempo dos animais tratados com medicamentos. (A) útero de animal sem tratamento; (B) útero de animal tratado com Paracetamol; (C) útero de animal tratado com ibuprofeno. Úteros de animais tratados com veículo não apresentaram diferenças quando comparados com os úteros dos animais dos demais grupos.



**Figura 6.** Morfologia das placentas e embriões da linhagem de camundongos Swiss. Grupos de 5 fêmeas Swiss foram tratadas por gavagem, ou não (“Controle”), com paracetamol ou ibuprofeno, por dois períodos de 5 dias, com intervalo de 2 dias entre estes períodos. Alguns animais receberam apenas o veículo dos medicamentos (PBS), pela mesma via e no mesmo período de tempo dos animais tratados com medicamentos. (A) Placenta e feto abortado, encontrado em útero de fêmea que recebeu apenas veículo; nota-se o aspecto pálido de ambos, pela ausência de circulação. (B) Placenta e feto com desenvolvimento normais, encontrado no mesmo útero do qual foram removidos a placenta e o embrião abortados; nota-se a placenta repleta de sangue materno e fetal e a coloração rosada do feto, indicando que não houve comprometimento da circulação sanguínea.

## 7. DISCUSSÃO

Embora os dados de outros estudos mostrem efeitos deletérios da exposição intrauterina ao paracetamol na fertilidade de camundongos fêmeas que nasceram destas fêmeas tratadas (ARENDRUP et al., 2018, HOLM et al., 2016,), os nossos resultados mostram que fêmeas tratadas pré-coito com paracetamol (ou Ibuprofeno) não tiveram alterações no número de fêmeas que conseguem engravidar (Figura 2), ou no número médio de embriões que carregam (Figura 3); deste modo, o tratamento pré-coito com paracetamol parece não interferir com o normal desenvolvimento folicular, indicando que as alterações descritas por outros autores só ocorrem nas células da linhagem germinativa quando os embriões fêmeas são expostos. Esta hipótese foi ainda reforçada pelos achados mais recentes de HURTADO-GONZALEZ et al., (2018), quando estudaram o efeito de paracetamol em ratos fêmeas grávidas. Estes autores demonstraram que o uso desse medicamento diminuiu a quantidade das células originárias da endoderme da vesícula vitelina em torno de 17 a 30%. Como em nossos experimentos os tratamentos foram interrompidos antes do acasalamento, eles indicam que quaisquer efeitos negativos dos medicamentos são transitórios e rapidamente reversíveis. No entanto, há uma preocupação crescente com a exposição a substâncias químicas durante a gestação e, entre estas substâncias, os

analgésicos. O uso destes medicamentos durante desenvolvimento embrionário pode não apresentar consequências imediatas, mas resultar em comprometimento futuro da saúde (JOHANSSON et al., 2017). Em ratos, a descida testicular é influenciada pela testosterona produzida pelas células de Leydig do testículo fetal e estudos experimentais demonstraram que analgésicos como o acetaminofeno, o ibuprofeno e a aspirina podem reduzir a produção de testosterona pelo testículo fetal, influenciando a fertilidade (VAN DEN DRIESCHE et al., 2015).

O paracetamol e os AINEs utilizados com frequência para dor, capazes de atravessar a placenta, nem sempre são evitados por mulheres grávidas ou muitas vezes usados por aquelas mulheres que ainda não possuem consciência da gravidez (ARENDRUP et al., 2018). Nos seres humanos, o acetaminofeno/paracetamol tem uma alta biodisponibilidade oral de 88%, sendo prontamente absorvido e, após uma dose terapêutica, o plasma apresenta picos de concentração dentro de 90 minutos após a ingestão, e uma meia-vida plasmática de 1,5 a 2,5 h (HODGMAN; GARRARD, 2012). Portanto, a eliminação do paracetamol do organismo é rápida, corroborando novamente com a hipótese de que seus efeitos negativos sobre as células germinativas são transitórios.

## **8. CONCLUSÕES**

Diante dos resultados obtidos, concluímos que a utilização prévia destes medicamentos não causa alterações na fertilidade das fêmeas de camundongos Swiss, indicando que são seguros para o uso no período pré-concepção. Ou seja, nossos resultados indicam que o pré-tratamento com esses medicamentos, sem receita, não interfere com a fertilidade desde que seus usos sejam interrompidos antes das tentativas de concepção.

## 9. REFERÊNCIAS

AGARWAL, A. et al. Role of antioxidants in treatment of male infertility: An overview of the literature. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 8, n. 6, p. 616–627, 2004.

AGARWAL, A.; SALEH, R. A.; BEDAIWY, M. A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. **Fertility and Sterility**, v. 79, n. 4, p. 829–843, 2003.

AKSU, E. H. et al. Mitigation of paracetamol-induced reproductive damage by chrysin in male rats via reducing oxidative stress. **Andrologia**, v. 48, n. 10, p. 1145–1154, 2016.

AMIRI, M. et al. Prevalence of urinary tract infection among pregnant women and its complications in their newborns during the birth in the hospitals of Dezful city, Iran, 2012 - 2013. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 17, n. 8, 2015.

ARENDROP, F. S. et al. EDC IMPACT: Is exposure during pregnancy to acetaminophen/paracetamol disrupting female reproductive development? **Endocrine Connections**, v. 7, n. 1, p. 149–158, 2018.

ASHARY, N.; TIWARI, A.; MODI, D. Embryo Implantation: War in times of love. **Endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 1188–1198, 2018.

BAERWALD, A. R.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: A review. **Human Reproduction Update**, v. 18, n. 1, p. 73–91, 2012.

BAIRD, D. T. et al. **Physiopathological determinants of human infertility** *Human Reproduction Update*, 2002.

BAIRD, D. T. et al. Fertility and ageing. **Human Reproduction Update**, v. 11, n. 3, p. 261–276, 2005.

BONNEY, E. A. Immune Regulation in Pregnancy: A Matter of Perspective? **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 43, n. 4, p. 679–698, 2016.

BROWN, H. L. *Gestação Normal*. Manual MSD Versão Saúde para a Família. In: [s.l.: s.n.].

BUDINETZ, T. H. et al. Ovulation rate and cycle characteristics in a subsequent clomiphene citrate cycle after stair-step protocol. **Fertility and Sterility**, v. 103, n. 3, p. 675–679, 2015.

CAHILL, D. J.; WARDLE, P. G. Clinical review Management of infertility. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 325, n. July, p. 28–32, 2002.

CALIGIONI, C. ARV and Nutrition Interactions. **Current Protocols in Neuroscience**, v. 48, n. 1, p. A.41.1-A.41.8, 2009.

CARPENTER, J. W. **Formulário de Animais Exóticos**. 3ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Medvet, 2010.

COCKBURN, K. et al. Making the blastocyst : lessons from the mouse Find the latest version : Review series Making the blastocyst : lessons from the mouse. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 4, p. 995–1003, 2010.

CONDIC, M. L. Totipotency: What it is and what it is not. **Stem Cells and Development**, v. 23, n. 8, p. 796–812, 2014.

DASTUR ADI, E.; TANK, P. D. John A Sampson and the origins of

- Endometriosis. **Journal of Obstetrics and Gynecology of India**, v. 60, n. 4, p. 299–300, 2010.
- DEAN, A. et al. Analgesic exposure in pregnant rats affects fetal germ cell development with inter-generational reproductive consequences. **Scientific Reports**, v. 6, n. December 2015, p. 1–12, 2016.
- DEWAILLY, D. et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. **Human Reproduction Update**, v. 20, n. 3, p. 370–385, 2014.
- ENGELAND, A. et al. Trends in prescription drug use during pregnancy and postpartum in Norway, 2005 to 2015. **Pharmacoepidemiology and Drug Safety**, v. 27, n. 9, p. 995–1004, 2018.
- FISHER, S. J. Placental remodelling of Uterine Vasculature. **Methods in enzymology**, v. 6879, n. 08, p. 1–19, 2010.
- GELLERSEN, B.; BROSENS, J. J. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. **Endocrine Reviews**, v. 35, n. 6, p. 851–905, 2014.
- GODERSKY, ME, MPH, L K, VENTURA, VAS, WALLEY, AY, S. R. Identification of non-steroidal anti-inflammatory drug use disorder: A case report. **Addict Behav**, v. 70 61–64, 2017.
- GREAVES, E. et al. Estradiol Is a Critical Mediator of Macrophage-Nerve Cross Talk in Peritoneal Endometriosis. **American Journal of Pathology**, v. 185, n. 8, p. 2286–2297, 2015.
- GREEN, K. A. et al. Progesterone luteal support after ovulation induction and intrauterine insemination: an updated systematic review and meta-analysis. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 4, p. 924- 933.e5, 2017.
- HALL, J. E. Neuroendocrine physiology of the early and late menopause. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 33, n. 4, p. 637–659, 2004.
- HENDRIX, ABERNETHY, SLOANE, MISURACA, & M. AUTOIMMUNE DISEASE DURING PREGNANCY AND THE MICROCHIMERISM LEGACY OF PREGNANCY. **Immunol Invest.**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2013.
- HODGMAN, M. J.; GARRARD, A. R. A Review of Acetaminophen Poisoning. **Critical Care Clinics**, v. 28, n. 4, p. 499–516, 2012.
- HOLM, J. B. et al. Intrauterine Exposure to Paracetamol and Aniline Impairs Female Reproductive Development by Reducing Follicle Reserves and Fertility. **Toxicological Sciences**, v. 150, n. 1, p. 178–189, 2016.
- HURTADO-GONZALEZ, P. et al. Effects of exposure to Acetaminophen and Ibuprofen on fetal germ cell development in both sexes in rodent and human using multiple experimental systems. **Environmental Health Perspectives**, v. 126, n. 4, p. 1–17, 2018.
- JEONG, H. Altered drug metabolism during pregnancy: Hormonal regulation of drug-metabolizing enzymes. **Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology**, v. 6, n. 6, p. 689–699, 2010.
- JOHANSSON, H. K. L. et al. Environmental influences on ovarian dysgenesis-developmental windows sensitive to chemical exposures. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 7, p. 400–414, 2017.

KENNY, L. C.; KELL, D. B. Immunological tolerance, pregnancy, and preeclampsia: The roles of semen microbes and the father. **Frontiers in Medicine**, v. 4, n. JAN, 2017.

LEVERRIER-PENNA, S. et al. Ibuprofen is deleterious for the development of first trimester human fetal ovary ex vivo. **Human Reproduction**, v. 33, n. 3, p. 482–493, 2018.

LOPES, I. M. R. S. et al. Endometrium in women with polycystic ovary syndrome during the window of implantation. **Revista da Associacao Medica Brasileira**, v. 57, n. 6, p. 688–695, 2011.

LUCIFERO, D.; CHAILLET, J. R.; TRASLER, J. M. Potential significance of genomic imprinting defects for reproduction and assisted reproductive technology. **Human Reproduction Update**, v. 10, n. 1, p. 3–18, 2004.

MACER, M. L.; TAYLOR, H. S. Endometriosis and Infertility. A Review of the Pathogenesis and Treatment of Endometriosis-associated Infertility. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 39, n. 4, p. 535–549, 2012.

MCINERNEY, K. A. et al. Preconception use of pain-relievers and time-to-pregnancy: A prospective cohort study. **Human Reproduction**, v. 32, n. 1, p. 103–111, 2017.

MICU, M. C.; MICU, R.; OSTENSEN, M. Luteinized unruptured follicle syndrome increased by inactive disease and selective cyclooxygenase 2 inhibitors in women with inflammatory arthropathies. **Arthritis Care and Research**, v. 63, n. 9, p. 1334–1338, 2011.

MOSLEMI, M. K.; TAVANBAKHS, S. Selenium-vitamin E supplementation in infertile men: Effects on semen parameters and pregnancy rate. **International Journal of General Medicine**, v. 4, p. 99–104, 2011.

MOSLEY II, J. F.; SMITH, L. L.; DEZAN, M. D. An overview of upcoming changes in pregnancy and lactation labeling information. **Pharmacy Practice**, v. 13, n. 2, p. 605, 2015.

MURAKAMI, Y. et al. FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF HUMAN MONOCARBOXYLATE TRANSPORTER 6 ( SLC16A5 ) Yuichi Murakami , Noriko Kohyama , Yasuna Kobayashi , Masayuki Ohbayashi , Hisakazu Ohtani , ABSTRACT : **Pharmacology**, v. 33, n. 12, p. 1845–1851, 2005.

NORDENG, H.; YSTRØM, E.; EINARSON, A. Perception of risk regarding the use of medications and other exposures during pregnancy. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 66, n. 2, p. 207–214, 2010.

PAPASEIT, E.; GARCÍA-ALGAR, O.; FARRÉ, M. Talidomida : una historia inacabada Thalidomide : an unfinished history. v. 78, n. 5, 2013.

PENG, R. X.; LEWIS, K. F.; YANG, C. S. Effects of butylated hydroxyanisole on microsomal monooxygenase and drug metabolism. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 7, n. 2, p. 157–161, 1986.

PICKERING, G. et al. Paracetamol sharpens reflection and spatial memory: A double-blind randomized controlled study in healthy volunteers. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 3969–3976, 2016.

REEL, J. R.; LAWTON, A. D.; LAMB, J. C. Reproductive toxicity evaluation of acetaminophen in Swiss CD-1 mice using a continuous breeding protocol. **Toxicological Sciences**, v. 18, n. 2, p. 233–239, 1992.

ROODBARI, F.; ABEDI, N.; TALEBI, A. R. Early and late effects of ibuprofen on mouse sperm parameters, chromatin condensation, and DNA integrity in mice. **International Journal of Reproductive BioMedicine**, v. 13, n. 11, p. 703–710, 2015.

ROSSITTO, M. et al. In utero exposure to acetaminophen and ibuprofen leads to intergenerational accelerated reproductive aging in female mice. **Communications Biology**, v. 2, n. 1, p. 310, 13 dez. 2019.

SALEH, R. A. et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. **Fertility and Sterility**, v. 79, n. SUPPL. 3, p. 1597–1605, 2003.

SCHMIDT, L. et al. Patients' attitudes to medical and psychosocial aspects of care in fertility clinics: Findings from the Copenhagen Multi-centre Psychosocial Infertility (COMPI) Research Programme. **Human Reproduction**, v. 18, n. 3, p. 628–637, 2003.

SCOGGIN, C. F. Not just a number: Effect of age on fertility, pregnancy and offspring vigour in thoroughbred brood-mares. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 27, n. 6, p. 872–879, 2015.

SCUTIERO, G. et al. Oxidative Stress and Endometriosis: A Systematic Review of the Literature. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

SHARMA, S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. **International Journal of Developmental Biology**, v. 58, n. 2–4, p. 219–229, 2014.

SMEDBERG, J. et al. Medication use and drug-related problems among women at maternity wards—a cross-sectional study from two Norwegian hospitals. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 72, n. 7, p. 849–857, 2016.

SOMMA-PILLAY, P. et al. Physiological changes in pregnancy. **Cardiovascular Journal Of Africa**, v. 27, n. 2, p. 89–94, 2016.

SUAREZ RD, GROBMAN WA, P. B. Indomethacin tocolysis and intraventricular hemorrhage. **Obstet Gynecol**, v. 6, p. 921–925, 2001.

THIRUCHELVAM, U.; WINGFIELD, M.; O'FARRELLY, C. Natural Killer Cells: Key Players in Endometriosis. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 74, n. 4, p. 291–301, 2015.

TOMS, D.; PAN, B.; LI, J. Endocrine regulation in the ovary by MicroRNA during the estrous cycle. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, n. JAN, p. 7–11, 2018.

TSEVAT D G, PEIPERT JF WIESENFELD HC, P. C. Sexually Transmitted Diseases and Infertility Ms. **Am J Obstet Gynecol**, v. 25, n. 5, p. 1032–1057, 2017.

VAN DEN DRIESCHE, S. et al. Prolonged exposure to acetaminophen reduces testosterone production by the human fetal testis in a xenograft model. **Science translational medicine**, v. 7, n. 288, 2015.

VANDER BORGHT, M.; WYNS, C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. **Clinical Biochemistry**, v. 62, n. February, p. 2–10, 2018.

WAGNER, H.; CHENG, J. W.; KO, E. Y. Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. **Arab Journal of Urology**, v. 16, n. 1, p. 35–43, 2018.

XIA, B. et al. A simplified PBPK modeling approach for prediction of pharmacokinetics of four primarily renally excreted and CYP3A metabolized compounds during pregnancy. **AAPS Journal**, v. 15, n. 4, p. 1012–1024, 2013.

YOSHINAGA, K. A historical review of blastocyst implantation research.  
**Biology of Reproduction**, v. 99, n. 1, p. 175–195, 2018.

ZHANG, S. et al. implantation. v. 34, n. 5, p. 939–980, 2014.