

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

**Programa baseado em mindfulness para redução do estresse
em mulheres inférteis:
ensaio clínico controlado e randomizado**

Simone França Nery

Belo Horizonte

2018

APROVAÇÃO E REGISTRO DO ESTUDO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Parecer Nº 903.582) e registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos, REBEC (Número de Identificação Primária RBR-7by76r) e na Plataforma Brasil (Registro CAAE: 35321414.0.0000.5149). Todos os pacientes incluídos neste estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

**Programa baseado em mindfulness para redução do
estresse em mulheres inférteis:
ensaio clínico controlado e randomizado**

Belo Horizonte

2018

Simone França Nery

**Programa baseado em mindfulness para redução do
estresse em mulheres inférteis:
ensaio clínico controlado e randomizado**

Tese de doutorado em Saúde da Mulher

Orientador: Prof. Dr. Fernando Marcos dos Reis

Co-orientadora: Profa. Dra. Sara de Pinho Cunha Paiva

Belo Horizonte

2018

DEDICATÓRIA

Aos professores:

Aroldo Camargos, que me conduziu ao “Mundo da Pesquisa;

Fernando Reis, que me ensinou a admirar esse mundo;

Sara Paiva, que me apresentou o “Mundo Mindful”.

Este trabalho é o resultado da união desses mundos em mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Aroldo, pelo exemplo;

Ao Prof. Fernando, pela confiança constante e sábia orientação;

À Profa. Sara, por estar sempre e o tempo todo ao meu lado;

Aos professores da banca de qualificação, Ana Luiza, Antônio e Rubens, pelas críticas e sugestões que enriqueceram este trabalho;

À enfermeira Edna, por compartilhar comigo no dia a dia a vivência desse trabalho;

Às colegas Cynthia, Máira e Verônica pelo incentivo e ajuda;

Aos membros do laboratório, Prof. Antônio Lúcio e Érica, pela parceria;

À psicóloga Márcia Abreu Fonseca, pela assessoria técnica e disponibilidade;

A toda a equipe do LRH especialmente às secretárias Flávia, Juliana e Rosemeire, pela constante disposição em me ajudar;

Ao pessoal do setor de coleta de sangue, em especial à Arlete, pela disponibilidade;

Aos alunos de iniciação científica, Ana, Andressa, Felipe, Hana, Isabel e Rafael, pela inestimável ajuda;

A todas as pacientes participantes, que tornaram possível a realização deste estudo;

Aos meus amigos, por serem a minha fonte de energia;

Aos meus amores, por serem parte do que alimenta a minha paixão pela vida;

Aos meus familiares e “agregados”, pelo amoroso acolhimento em todos os momentos da minha vida;

Aos meus pais, pela vida e por me educarem para a vida com amor e sabedoria;

Aos meus irmãos, por me ajudarem sempre a encontrar um ponto de equilíbrio;

Às minhas filhas, dois anjos que caíram do céu, por me encherem de amor;

Enfim, a todos os espíritos, de todos os planos, que participam da nossa evolução.

“Ao cuidar de uma doença, você pode ganhar ou perder.
Ao cuidar de uma pessoa você sempre ganha”
(HUNTER DOHERTY, “Patch Adams”)

RESUMO

Introdução: As mulheres inférteis muitas vezes experimentam estresse crônico, que pode ter um impacto negativo no bem-estar geral (BEG) e agravar as consequências da infertilidade. O cortisol e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) estão envolvidos na reação de estresse. As terapias baseadas em mindfulness desenvolvem habilidades de autoconsciência e podem reduzir os sintomas de estresse e melhorar o BEG. No entanto, faltam estudos randomizados que avaliam os efeitos de um programa baseado em mindfulness (MBP) sobre os níveis de estresse em mulheres inférteis.

Objetivo: Avaliar os efeitos de um MBP sobre sintomas de estresse, sintomas de depressão, BEG, cortisol capilar e BDNF sérico em mulheres inférteis.

Metodologia: Este foi um ensaio clínico aberto, controlado e randomizado. Mulheres inférteis com idade entre 18 e 50 anos (mediana de 37 anos) foram aleatoriamente designadas para um MBP de oito semanas ou nenhuma intervenção. O desfecho primário foi a intensidade e o número de sintomas de estresse mensurada pelo Inventário de Sintomas de Stress de Lipp (ISSL). Os desfechos secundários foram os sintomas de depressão medidos pelo Inventário de Depressão de Beck (BDI), o BEG, mensurado pelo Inventário Psicológico de Bem-Estar Geral (PGWBI), o cortisol capilar e os níveis séricos de BDNF. Os dados foram analisados por meio do princípio da intenção de tratar modificado, que incluiu todos os casos disponíveis para acompanhamento, independentemente da adesão à intervenção (62 participantes do grupo MBP e 38 do grupo controle).

Resultados: A mediana do número de sintomas de estresse crônico presentes no mês anterior diminuiu de 6 (intervalo interquartil 2 a 9) antes do MBP para 2 (intervalo interquartil 1 a 4) após a intervenção ($p < 0,001$, análise de variância para medidas repetidas com interação tempo x grupo). Os sintomas de depressão também diminuíram após o MBP (escore BDI 12,0 [6,3-17,0] antes e 6,5 [1,5-10,8] após a intervenção, $p = 0,001$), enquanto o BEG melhorou (PGWBI 82 [67-97] antes e 97 [84-107] após a intervenção, $p = 0,003$). O cortisol capilar e o BDNF sérico não se alteraram significativamente entre pré e pós-intervenção. Nenhum dos resultados apresentou alteração significativa no grupo de controle.

Conclusão: O MBP foi eficaz para redução do estresse e dos sintomas de depressão, bem como para o aumento do BEG em mulheres inférteis.

Palavras-chave: Infertilidade, estresse, cortisol, fator neurotrófico derivado do cérebro, atenção plena, mindfulness, depressão, BEG, qualidade de vida, BDNF.

ABSTRACT

Background: Infertile women often experience chronic stress, which may have a negative impact on general well-being and increase the burden of infertility. Cortisol and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) are involved in stress response. Mindfulness-based therapies develop abilities of self-awareness and may reduce stress symptoms and improve general well-being. However, no randomized trials have tested the effects of a mindfulness-based program (MBP) on stress measures in infertile women.

Objective: To evaluate the effects of a MBP on stress symptoms, depressive symptoms, general well-being, hair cortisol and serum BDNF in infertile women.

Methods: This was an open label randomized controlled trial. Infertile women aged 18-50 years (median 37 years) were randomly assigned to an eight-week MBP or no intervention. The primary outcome was stress intensity measured by the Lipp Stress Symptoms Inventory (ISSI). Secondary outcomes were depressive symptoms measured by the Beck Depression Inventory (BDI), general well-being assessed by the Psychological General Well Being Inventory (PGWBI), hair cortisol and serum BDNF levels. Data were analyzed by modified intent-to-treat principle, which included all cases available to follow-up regardless of adherence to the intervention (62 participants from the MBP group and 38 from the control group).

Results: The median number of symptoms of chronic stress recorded in the past month decreased from 6 (interquartile range 2 to 9) before the MBP to 2 (interquartile range 1 to 4) after the intervention ($p < 0.001$, repeated measures analysis of variance with time x group interaction). Depressive symptoms also decreased after MBP (BDI score 12.0 [6.3-17.0] before and 6.5 [1.5-10.8] after intervention, $p = 0.001$), while general well-being improved (PGWBI score 82 [67-97] before and 97 [84-107] after intervention, $p = 0.003$). Hair cortisol and serum BDNF did not change significantly between pre- and post-intervention. None of the outcomes changed significantly in the control group.

Conclusion: MBP was effective in reducing stress and depressive symptoms as well as increasing general well-being in infertile women.

Key words: Infertility, stress, cortisol, brain-derived neurotrophic factor, mindfulness, mindfulness, depression, general well-being, quality of life, BDNF.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Abreviaturas:

BDI: Inventário de depressão de Beck (“Beck Depression Inventory”)

BDNF: Fator neurotrófico derivado do cérebro (“Brain Derived Neurotrophic Fator”)

BEG: bem-estar geral

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

GC: grupo controle

GI: grupo intervenção

HPA: Hipotálamo-hipófise-(pituitária)-adrenal

IMC: Índice de massa corporal

ISSL: Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp

MBP: Programa baseado em mindfulness (“Mindfulness-Based Program”)

PGWBI: Índice psicológico de bem-estar geral (“Psychological General Well Being Index”)

TRA: tratamento(s) de reprodução assistida

Siglas:

h: hora(s)

Kg: kilogramas

m²: metro quadrado

mg: miligramas

ml: mililitros

n: número

nm: nanômetros

p: limite de significância estatística (Pearson)

rpm: rotações por minuto

Símbolos:

~: aproximadamente

°C: graus centígrados

=: igual

<: menor

µl: microlitros

%: percentual

X: *versus*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fases do estresse (adaptado de Lipp MN, 2005).....	20
Tabela 2: Dados demográficos e clínicos basais dos dois grupos de estudo Esta tabela inclui apenas os participantes que retornaram ao acompanhamento. Variáveis quantitativas são expressas como média ± desvio padrão. As variáveis categóricas são expressas como uma porcentagem dos participantes com essa variável disponível.	41
Tabela 3: Dados demográficos e clínicos basais de todas as pacientes randomizadas para os grupos controle e intervenção. Variáveis quantitativas são expressas como média ± desvio padrão. As variáveis categóricas são expressas como uma porcentagem dos participantes com essa variável disponível.	42
Tabela 4: Sintomas de estresse físico e psicológico antes e depois de nenhuma intervenção (controle) ou intervenção MBP. Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil. #p<0.001 X Antes (teste Wilcoxon's para amostras pareadas). *p<0.05 X Controle (teste Mann-Whitney para amostras independentes).....	44
Tabela 5: Variáveis associadas às fases do estresse na população total do estudo.....	45
Tabela 6: Áreas cerebrais ativadas e mecanismos associados à prática de mindfulness (Holzel BK, 2011)	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Reação ao estresse: duração dos fatores estressantes X níveis de mediadores (Lee DY, 2015)	21
Figura 2: Cortisol capilar (Lee DY, 2015)	23
Figura 3: Atitude automática (seta longa) X atitude consciente (setas curtas) (Marie D).....	26
Figura 4: Modelo de Prática de Mindfulness de Liverpool (Malinowski P, 2013)	27
Figura 5: Delineamento do estudo	31
Figura 6: Etapas do programa baseado em mindfulness (MBP)	33
Figura 7: Dosagem de cortisol (ELISA competitivo)	35
Figura 8: Dosagem de BDNF (ELISA sanduiche).....	37
Figura 9: Fluxograma CONSORT 2010	39
Figura 10: Sintomas de estresse com MBP (Mindfulness) <i>versus</i> nenhuma intervenção (Controle). Os gráficos de caixa representam os quartis e as barras de erro representam os centésimos 10 e 90 do número de sintomas positivos nas últimas 24 horas (A), semana (B) ou mês (C). Cada período de tempo tem uma lista específica de sintomas físicos e psicológicos que são verificados pelo entrevistado como estando presente ou ausente. Valores de P referem-se a análise de variância para medidas repetidas.	43
Figura 11: Fases do estresse avaliadas pelo ISSL antes e depois do MBP (Mindfulness) ou nenhuma intervenção (Controle). A altura das colunas corresponde à mediana e a barra de erro indica o terceiro quartil. *p <0,05 X Antes (teste de Wilcoxon)	45
Figura 12: A) Sintomas de depressão com MBP (Mindfulness) <i>versus</i> nenhuma intervenção (Controle). Os gráficos de caixa representam os quartis e as barras de erro representam os centésimos 10 e 90 dos escores do Inventário de Depressão de Beck (BDI), e o valor de P refere-se a análise de variância para medidas repetidas. B) Variação dos escores do BDI (depois menos antes). O valor de P refere-se ao teste de Mann-Whitney para amostras independentes.....	46
Figura 13: A) Bem-estar geral com MBP (Mindfulness) <i>versus</i> nenhuma intervenção (Controle). Os gráficos de caixa representam os quartis e as barras de erro representam os centésimos 10 e 90 dos escores do Inventário Psicológico do Bem-Estar Geral (PGWBI), e o valor de P refere-se a análise de variância para medidas repetidas. B) Variação de pontuações PGWBI (depois menos antes). O valor de P refere-se ao teste de Mann-Whitney para amostras independentes.	47
Figura 14: Níveis de cortisol capilar (A, B) e BDNF sérico (C, D). Os níveis basais (A, C) foram analisados de acordo com a categorização dos participantes pelo questionário de estresse em “Sem Estresse” ou diferentes estágios de estresse crônico, a saber, “Resistência” e “Quase-exaustão”. As categorias Alerta e Exaustão possuíam apenas um participante cada e, portanto, não foram analisadas.* P <0,05 <i>versus</i> “Sem Estresse” (análise de variância de Kruskal-Wallis seguida do teste de Dunn). Não houve mudança significativa em qualquer biomarcador (B, D) após o programa baseado em mindfulness ou nenhuma intervenção (Controle).	48

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Infertilidade	17
1.2. Infertilidade e estresse.....	17
1.3. Conceito de estresse	18
1.4. Classificação do estresse	19
1.5. Resposta de estresse.....	20
1.5.1. Cortisol	22
1.5.2. BDNF.....	23
1.6. Avaliação do estresse e alguns de seus indicadores comportamentais	24
1.7. Mindfulness.....	24
1.7.1. Breve histórico	24
1.7.2. Conceito	25
1.7.3. Prática.....	26
1.7.4. Efeitos psicológicos	26
1.8. Mindfulness para redução do estresse em mulheres inférteis.....	27
2. OBJETIVOS	29
3. METODOLOGIA.....	30
3.1. Delineamento do estudo.....	30
3.2. Aprovação e registro do estudo	31
3.3. População.....	31
3.4. Randomização, alocação e cegamento	32
3.5. Intervenção	32
3.6. Avaliações.....	33
3.6.1. Estresse	33
3.6.2. Depressão.....	34

3.6.3.	Bem-estar geral	34
3.6.4.	Cortisol capilar.....	34
3.6.5.	BDNF sérico	36
3.7.	Cálculo amostral.....	37
3.8.	Análise Estatística.....	37
4.	RESULTADOS	39
4.1.	Fluxo de Participantes:.....	39
4.2.	Características basais:	40
4.3.	Sintomas de estresse.....	43
4.4.	Fases do estresse.....	44
4.5.	Depressão.....	46
4.6.	Bem estar geral	46
4.7.	Cortisol capilar e BDNF.....	47
5.	DISCUSSÃO	49
5.1.	Estresse	49
5.2.	Cortisol	51
5.3.	BDNF.....	52
5.4.	Depressão.....	53
5.5.	Bem estar geral	54
5.6.	Mindfulness.....	54
5.7.	Limitações	57
6.	CONCLUSÕES.....	58
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
	ANEXO A.....	60
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

1. INTRODUÇÃO

1.1. Infertilidade

A média de ocorrência de gravidez na população geral gira em torno de 20% a cada ciclo menstrual, 84% ao final de um ano, 92% em dois anos e 93% após três anos de susceptibilidade à concepção (Camargos *et al.*, 2011). A infertilidade é definida como a falha de ocorrência de gravidez apesar de atividade sexual regular sem utilização de métodos contraceptivos após um ano para mulheres menores de 35 anos ou seis meses para mulheres com mais de 35 anos (Medicine, 2013; Zegers-Hochschild *et al.*, 2017) e acomete em torno de 15% das mulheres em idade reprodutiva (Petraglia *et al.*, 2013; Thoma *et al.*, 2013).

1.2. Infertilidade e estresse

Embora muitos casais experimentem uma sensação de alívio quando iniciam o tratamento de reprodução assistida (TRA), casais inférteis frequentemente apresentam estresse crônico, que pode ter um impacto negativo sobre o bem-estar geral (BEG) e aumentar o sofrimento relacionado à infertilidade e o desconforto do TRA. Mulheres inférteis frequentemente estão expostas a diversos fatores estressantes relacionados principalmente ao fato de serem inférteis e comumente sofrerem estigmatização e pressão social (estresse psicossocial) (Karaca e Unsal, 2015), mas também a alguns aspectos do processo de tratamento da infertilidade que, além de ser de alto custo (estresse financeiro) e envolver realização de extensa propedêutica, muitas vezes dolorosa (estresse físico), apresenta taxa de sucesso limitada, constituindo-se, muitas vezes, em várias tentativas e falhas terapêuticas, que podem resultar em sucessivos ciclos de expectativa e frustração (estresse emocional). A relação entre infertilidade e estresse já vem sendo estudada há décadas (Seibel e Taymor, 1982) e já foi demonstrado que o estresse relacionado à infertilidade geralmente é crônico e predominantemente psicológico e que pode ter um impacto negativo sobre o bem-estar geral (BEG), auto percepção e percepção da vida em geral (Wilson e Kopitzke, 2002; Karaca e Unsal, 2015).

1.3. Conceito de estresse

“Stress” nunca foi uma palavra fácil de ser definida. Em 1658, o físico Robert Hooke a utiliza no sentido de “força externa” na descrição da máxima da física conhecida como Lei de Hooke, que explica a elasticidade de um material: “a magnitude de uma força externa, ou estresse, produz uma quantidade proporcional de deformação em um material maleável”. Dicionários de português definem “estresse” como “angústia”, “tensão física, mental ou emocional”, “condição ou sentimento experimentado quando as demandas excedem os recursos pessoais e sociais que o indivíduo é capaz de mobilizar”. No Código Internacional de Doenças (CID-10), não há um código específico para a “doença estresse”, mas há doenças cuja codificação as relaciona diretamente ao “stress” (descritas como “reação ao estresse” ou “estado de stress”): Reação aguda ao "stress" (F430), Estado de "stress" pós-traumático (F431), Outras reações ao "stress" grave (F438), Reação não especificada a um "stress" grave (F439), Inquietação e preocupação exageradas com acontecimentos "estressantes" (R466), e, finalmente, Stress não classificado em outra parte (Z733), código que também não define nem classifica o estresse. Hans Selye (1908-1982), endocrinologista pioneiro no estudo sistemático do tema, tentou durante toda a sua vida encontrar uma definição satisfatória para “Stress”: “Reação não específica do corpo a qualquer demanda de mudança” (1936), “O estado que se manifesta através da Síndrome Geral de Adaptação” (1959), “A taxa de desgaste do corpo” (referindo-se ao estresse crônico), e, finalmente, nos seus últimos anos de vida, deu a seguinte resposta a um repórter, quando questionado sobre a definição de estresse: “Todo mundo sabe o que é o estresse, mas ninguém realmente sabe”. Mais recentemente (1984), Marilda Lipp, psicóloga que se dedicou à sistematização do estudo e diagnóstico do “estresse”, nos apresenta uma definição simples e abrangente: “Uma reação adaptativa do organismo a um evento importante (positivo ou negativo), composta por componentes psicológicos, físicos, mentais e hormonais”.

Com base nas diversas definições acima, utilizamos no nosso estudo o seguinte conceito para “estresse”: “O estado caracterizado por perturbação da homeostase do organismo gerada pela reação adaptativa a fatores estressantes (eventos significativos externos ou internos, negativos ou positivos) que visa, primariamente, a proteção do próprio indivíduo”. A expressão “fatores estressantes” foi criada por

Seyle, com o objetivo de separar a causa (fator estressante) do efeito (reação de estresse), até então confundidas pela utilização de uma única palavra (estresse) em ambas as situações. Esse termo foi utilizado em nosso estudo ao nos referirmos ao “evento provocador da reação de estresse”.

1.4. Classificação do estresse

Dentre os estudiosos do tema acima citados, Seyle (1936) e Lipp (1984) estabeleceram padrões de classificação do estresse.

Hans Seyle, baseado em experimentos com animais, foi o primeiro cientista a descrever objetivamente o estresse como uma reação fisiológica do organismo em resposta a estímulos estressores. Ele nomeou essa reação de "Síndrome Geral de Adaptação" e a dividiu em três estágios progressivos, porém coexistentes (Seyle, 1936):

- **Alarme:** O primeiro estágio do estresse é a expressão de um alarme geral do organismo quando repentinamente se depara com uma situação crítica e, portanto, denomina-se “reação geral de alarme”;
- **Resistência:** No segundo estágio, iniciado 48 horas após a lesão, as glândulas suprarrenais estão muito aumentadas. Parece que a hipófise anterior cessa a produção de hormônios de crescimento, gonadotróficos e prolactina em favor de uma maior produção dos fatores tireotróficos e adrenotróficos, que podem ser mais necessários em tais emergências. Os animais desenvolvem um estado de resistência e, ao final do segundo estágio, a aparência e a função de seus órgãos retornam praticamente ao normal;
- **Exaustão:** Com o estresse continuado, após um período de um a três meses (dependendo da gravidade do fator estressante), surge o terceiro estágio da síndrome, no qual os animais perdem sua resistência e sucumbem com sintomas semelhantes aos observados no primeiro estágio, porém em intensidade muito maior.

Marilda Lipp, após estudos sobre o estresse em humanos, tomando como base a classificação de Seyle, divide a fase de resistência em duas, denominando a segun-

da parte de fase de “quase exaustão”, conforme apresentado na tabela 1 (Novaes Lipp, 2005).

Tabela 1: Fases do estresse (adaptado de Lipp MN, 2005)

Fase do Estresse	Resposta do Organismo	Efeitos no individuo
1 - Alarme	-Resposta fisiológica imediata ao fator estressante -Sistema nervoso simpático: liberação de adrenalina (“Resposta de luta ou fuga”)	-Proteção/segurança -Fornecer energia -Sensação de plenitude (“Eustress”)
2 - Resistência	-Tentativa de retorno ao estado de homeostase -Liberação de cortisol	-Sofrimento através de sintomas inespecíficos, de menor intensidade
3 - Quase-exaustão	- Perda da capacidade de retornar ao estado de homeostase	-Sinais e sintomas de doenças específicas
4 - Exaustão	-Ativação simpática contínua	- Doenças mais graves

1.5. Resposta de estresse

Diante dos conceitos e classificações do estresse expostos acima, vimos que o “estresse”, em si, não é definido como doença. Entretanto, se os fatores estressantes se tornam crônicos, repetitivos ou de grande intensidade, a reação de estresse pode contribuir ou até mesmo ser a principal causa de doenças físicas (Lee *et al.*, 2015) e/ou psicológicas como, por exemplo, a depressão (Mazure *et al.*, 2002).

A relação entre estresse e doença data do final do século XIX quando Louis Pasteur observou, em estudos com animais, que as galinhas expostas a condições estressantes eram mais suscetíveis a infecções bacterianas (bacilos de antraz) do

que as que não haviam sido expostas. A partir de então, o estresse vem sendo considerado fator de risco para inúmeras patologias.

Qualquer estímulo indutor de alostase (alterações na homeostase) pode ser chamado de estímulo estressor e vai desencadear a reação de estresse. Os mediadores da reação de estresse englobam o sistema nervoso autônomo (catecolaminas), hormônios metabólicos (cortisol, insulina) e citocinas pró e anti-inflamatórias. Se os estímulos estressores forem excessivos e/ou repetitivos, a recuperação dos níveis homeostáticos originais (equilíbrio fisiológico) pode se dar de forma incompleta. Como consequência, o corpo pode se “acostumar” com esse novo ambiente (estressante) alterando o ponto de ajuste para adaptação futura. Assim, a diferença entre o novo ponto de ajuste e o antigo constitui a “carga cumulativa de adaptação ao estresse”, que pode ser chamada de carga alostática (Figura 1) (Lee *et al.*, 2015).

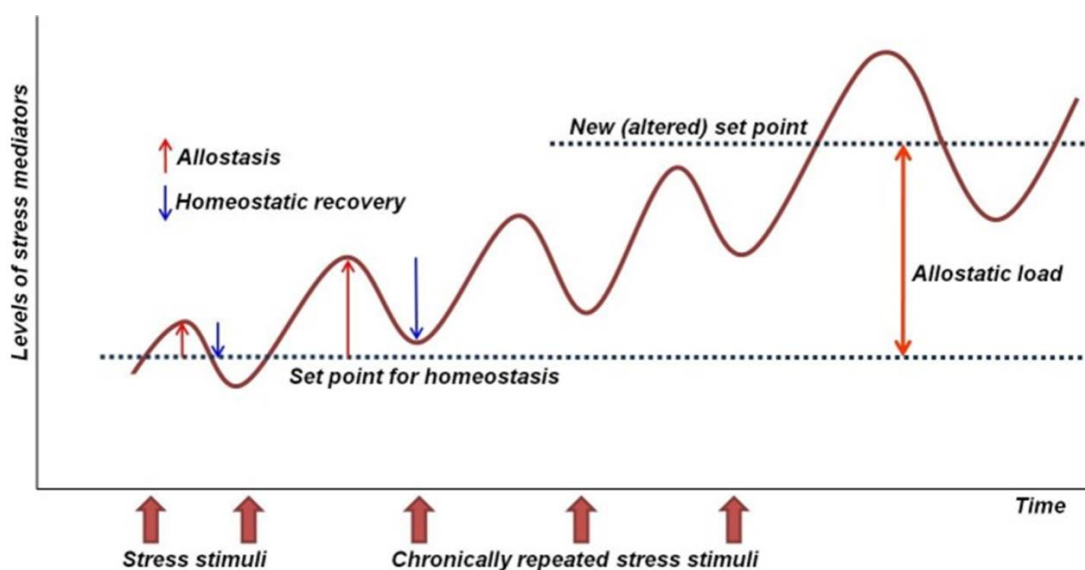


Figura 1: Reação ao estresse: duração dos fatores estressantes X níveis de mediadores (Lee DY, 2015)

Exemplos de carga alostática podem ser encontrados nos mediadores primários, (hipercortisolemia, citocinas inflamatórias aumentadas), desfechos secundários (pressão arterial elevada, sobrepeso, resistência à insulina) ou resultados terciários (hipertensão, diabetes, obesidade, doença coronariana, distúrbios neurodegenerativos), que estão relacionados à progressão das fases do estresse. Na fase aguda da reação de estresse (resposta de curto prazo), as catecolaminas causam alterações fisiológicas gerais que preparam o corpo para a atividade física (resposta de luta ou

fuga): aumento da frequência cardíaca, pressão arterial e níveis de glicose sanguínea e outras reações do sistema nervoso simpático. Na fase crônica da reação de estresse, os corticoides (glicocorticoides e mineralocorticoides) estão envolvidos em uma ampla gama de processos fisiológicos: resposta imune e regulação da inflamação, metabolismo de carboidratos, catabolismo proteico e níveis de eletrólitos no sangue, que podem resultar, inclusive, em alterações de comportamento (Lee *et al.*, 2015). Entretanto, os mecanismos neuroendócrinos envolvidos na reação de estresse ainda não foram totalmente esclarecidos.

1.5.1. Cortisol

O hormônio classicamente envolvido na reação ao estresse crônico é o cortisol, através da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-(pituitária)-adrenal (HPA) (Lee *et al.*, 2015).

O cortisol pode ser dosado em diferentes tipos de amostras: sangue, saliva, líquidos corporais e cabelo. A dosagem do cortisol no cabelo apresenta boa correlação com o cortisol circulante e, como o cortisol se acumula continuamente durante o processo de crescimento capilar, representa uma medida de longo prazo da exposição sistêmica ao cortisol. Como o cabelo cresce, em média, um centímetro ao mês, podemos avaliar períodos de tempo específicos escolhendo o comprimento da amostra de cabelo. O menor limite de confiabilidade descrito na literatura é de três meses anteriores à coleta, ou seja, três centímetros a partir da raiz do cabelo (Figura 2) uma vez que a dosagem de cortisol tende a reduzir proporcionalmente ao número de lavagens devido à eliminação de parte do cortisol a cada lavagem. A utilização de produtos químicos nos cabelos pode alterar essas dosagens erraticamente. Metanálise recente encontrou aumento de 22% no cortisol capilar em grupos expostos a fatores de estresse (Harkey, 1993; Meyer e Novak, 2012; Russell *et al.*, 2012; Stalder *et al.*, 2017).

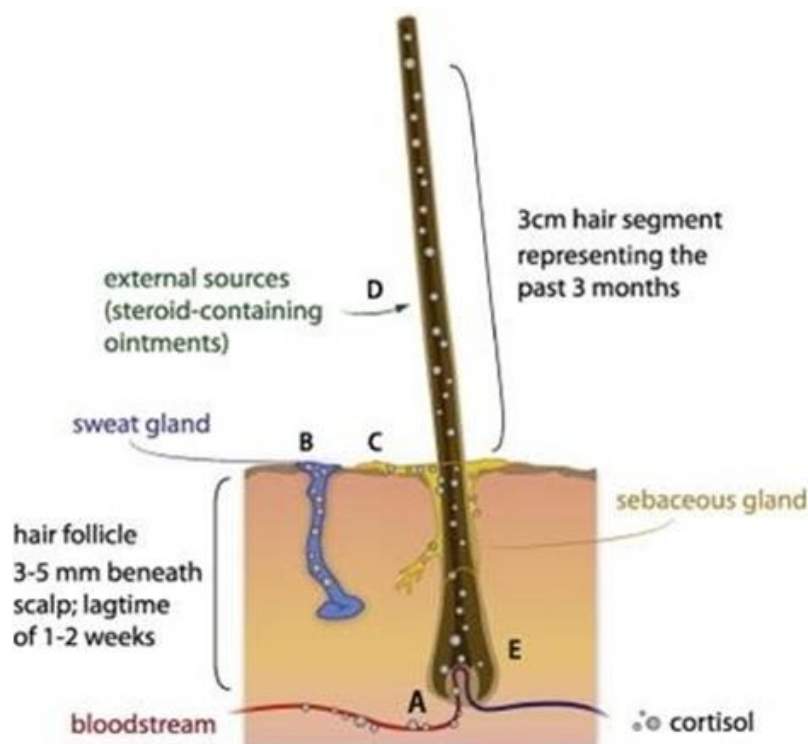


Figura 2: Cortisol capilar (Lee DY, 2015)

1.5.2. BDNF

O Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês “Brain derived neurotrophic fator”), membro da família dos fatores neurotróficos, é liberado durante a reação de estresse aguda e parece estar envolvido na inter-relação entre as respostas neural e endócrina ao estresse, que estão intimamente relacionadas a duas regiões do cérebro: o córtex frontal e o hipocampo, ambas responsáveis por produção de BDNF (Nibuya *et al.*, 1995). O eixo HPA sofre controle inibitório pelo hipocampo (Herman *et al.*, 1989). A redução da expressão do BDNF no hipocampo em resposta ao estresse resulta em perda desse controle. Esse poderia ser um dos mecanismos envolvidos no aumento do cortisol em resposta ao estresse (Young *et al.*, 1991; Nibuya *et al.*, 1995; Jacobson e Sapolsky, 1991). O principal papel do BDNF em situações estressantes parece ser uma proteção contra sintomas depressivos induzidos pelo estresse (Nibuya *et al.*, 1995; Autry *et al.*, 2009). Os níveis de BDNF na circulação periférica estão frequentemente reduzidos em indivíduos com um espectro de transtornos mentais que envolvem estresse, ansiedade e/ou depressão (Fontenelle *et al.*, 2012; Grassi-Oliveira *et al.*, 2008; Piccinni *et al.*, 2008; Viola *et al.*, 2014). Em mulheres saudáveis, o BDNF plasmático se correlaciona positivamente

com o enfrentamento do estresse e a resiliência (Ma *et al.*, 2016). Como o BDNF sérico reflete o BDNF do tecido cerebral, a dosagem periférica é uma alternativa viável para avaliação da produção cerebral do BDNF (Zhang *et al.*, 2012).

1.6. Avaliação do estresse e alguns de seus indicadores comportamentais

Apesar da sua aparente subjetividade o estresse pode ser quantificado. Existem vários tipos de questionário que avaliam diferentes indicadores do estresse (bem estar, desconforto, qualidade de vida, consciência, etc.) (Nyklícek e Kuijpers, 2008) Apresentamos aqui os instrumentos utilizados em nosso estudo para avaliação dos indicadores comportamentais do estresse, que serão detalhados na sessão de metodologia do estudo: O “Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp” (ISSL) é um questionário desenvolvido no Brasil para avaliação de sintomas e classificação do estresse (Novaes Lipp, 2005) O Índice Psicológico de Bem-Estar Geral (PGWBI, do inglês “Psychological General Well Being Index”) é um questionário utilizado na avaliação do estado psicológico e do BEG dos indivíduos (Lundgren-Nilsson *et al.*, 2013) O “Beck Depression Inventory” (BDI) é um questionário amplamente utilizado há décadas para avaliação de depressão (Beck *et al.*, 1961).

1.7. Mindfulness

Terapias comportamentais e cognitivas têm sido usadas para reduzir o estresse e suas consequências em diferentes populações, incluindo mulheres inférteis (Verkuijlen *et al.*, 2016). Algumas dessas terapias são baseadas nos princípios de mindfulness, que têm sua origem nas tradições orientais, especialmente o budismo.

1.7.1. Breve histórico

O termo “Mindfulness”, que pode ser traduzido em português como “atenção plena”, “observação clara”, “consciência plena”, é uma tentativa de tradução da palavra *Sati* da língua páli (um dos idiomas nos quais foram escritos os discursos de Buda), que abrange um conceito amplo no budismo e, portanto, difícil de ser traduzida. O autêntico objetivo do budismo é a eliminação do sofrimento. Segundo as crenças budistas, a raiz do sofrimento (*Dukkha*) se encontra na mente e, portanto, é lá que deve ser cortada. Os conceitos budistas começaram a ser incorporados à psi-

canálise no século XX e, através da publicação do livro de Erich Fromm “Zenbudismo e psicanálise”, foram introduzidos nas áreas de psicologia e medicina ocidentais. No final da década de 1960, à época do movimento hippie, a prática do zenbudismo já era adotada por uma corrente de psicoterapeutas no mundo ocidental, motivo pelo qual a Associação Americana de Psiquiatria publicou em 1977 a recomendação de que fossem realizadas pesquisas científicas sobre a eficácia do uso da meditação na prática clínica. Dois anos depois foi fundado o Centro de Mindfulness da Universidade de Massachusetts (EUA) por John Kabat-Zinn, fato que marcou o desenvolvimento das práticas de Mindfulness no mundo ocidental. Kabat-Zinn desenvolveu o programa “Mindfulness-Based Stress Reduction”, especificamente direcionado para o tratamento dos problemas relacionados ao estresse que tem sido usado desde 1980 (Miller *et al.*, 1995) Seguindo a mesma linha foi criado na Faculdade de Medicina da Universidade de Georgetown em Washigton DC o programa “Mind-body Skills” (Saunders *et al.*, 2007). Esse programa foi validado no Brasil (Paiva *et al.*, 2015) e foi utilizado no presente estudo com o nome genérico “Programa baseado em mindfulness” e a sigla MBP (do inglês, “Mindfulness-Based Program”).

1.7.2. Conceito

Assim como a palavra *Sati* que o originou, o termo “Mindfulness” também é difícil de ser definido. Com base nos conceitos de John Kabat-Zinn, utilizamos uma definição simples e, ao mesmo tempo, suficientemente abrangente: “atenção plena ao momento presente, intencional, com curiosidade e sem julgamento” (Crane *et al.*, 2017; Ludwig e Kabat-Zinn, 2008). Este conceito compreende os dois fundamentos básicos dessa prática: atenção focada (define o que fazer: focar intencionalmente a atenção às sensações corporais, pensamentos e sentimentos experienciados no momento presente) e monitoramento aberto (define como fazer: com curiosidade, abertura e aceitação, olhar neutro e descentrado, sem julgamentos) (Hayes-Skelton e Graham, 2013). Dessa forma, as atitudes passam a ocorrer não mais da forma “automática” com que estamos acostumados agir (reagir) no nosso cotidiano, mas de forma “consciente”, ou seja, baseadas na percepção real dos pensamentos, sentimentos e emoções (positivos e negativos) desencadeados pelo evento (Figura 3).

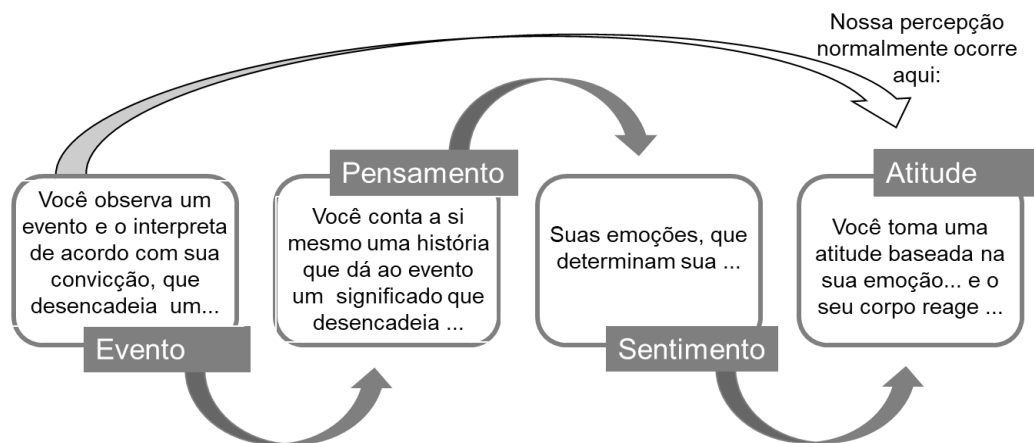


Figura 3: Atitude automática (seta longa) X atitude consciente (setas curtas) (Marie D)

Entretanto, devido à sua natureza experiencial, a plena compreensão de mindfulness exige uma experiência em primeira pessoa (Ludwig e Kabat-Zinn, 2008).

1.7.3. Prática

A essência da prática de mindfulness está no treinamento da atenção. A base das diferentes técnicas formais de mindfulness é a mesma: utilização de uma ancoragem para o treinamento da atenção. O que muda é a âncora, que pode estar na respiração (ex.: “prática dos 3 minutos”), nos movimentos corporais (ex.: “caminhada meditativa”) ou nas diversas sensações (ex.: “prática da uva”). A prática dessas técnicas formais é um caminho para a incorporação do estado mental de atenção plena à vida cotidiana, o que pode ser chamado de prática informal de mindfulness. Qualquer atividade ou momento de ociosidade pode ser vivido no “modo mindfulness”, ou seja, de forma consciente: banho, alimentação, tarefas domésticas, locomoção, trabalho, espera (no trânsito, na fila), atividades físicas, etc. Esse modo de ser é um dos caminhos para o reconhecimento, desenvolvimento e aprimoramento de habilidades, como autoconhecimento, autocuidado, aprendizagem, relacionamento interpessoal, espiritualidade, dentre outras, que têm repercussão em aspectos importantes da vida, tais como saúde, educação e trabalho.

1.7.4. Efeitos psicológicos

O “Modelo de Prática de Mindfulness de Liverpool” descreve de forma esquemática os processos e efeitos psicológicos relacionados às técnicas de mindfulness. Esse modelo estratifica o processo em cinco camadas cujos componentes in-

teragem entre si e influenciam seqüencialmente os resultados obtidos ao longo do processo: 1- fatores motivacionais (o que leva um indivíduo a se dedicar a exercícios mentais); 2- treinamento da mente (tipo de exercício mental); 3- processos principais (bases do processo mental desenvolvido através dos exercícios); 4- posição mental (base do equilíbrio da atitude mental nesse processo); 5- resultados (efeitos práticos) (Figura 4) (Malinowski, 2013).

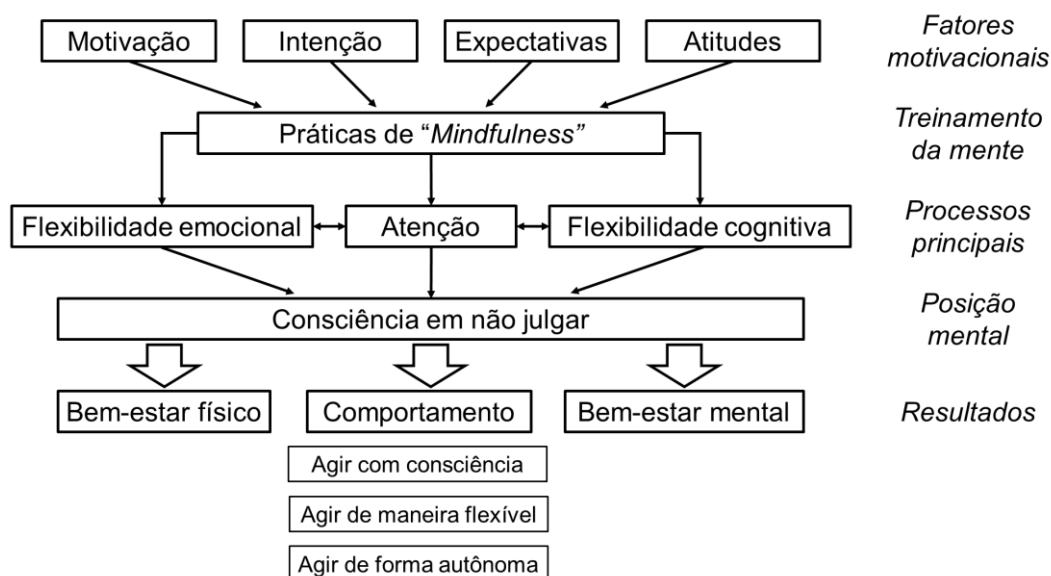


Figura 4: Modelo de Prática de Mindfulness de Liverpool (Malinowski P, 2013)

Instrumentos que possibilitam uma avaliação quantitativa dos efeitos das práticas baseadas em mindfulness são frequentemente utilizados em pesquisas científicas. Questionários padronizados mostram redução do estresse e dos sintomas de depressão (Fjorback *et al.*, 2011) e concomitante melhora na qualidade de vida (Homann *et al.*, 2012; Paiva *et al.*, 2015). Técnicas funcionais de neuroimagem permitem uma avaliação funcional da prática de mindfulness a nível cerebral e mostram ativação de áreas cerebrais específicas relacionadas a essa prática (Farb *et al.*, 2007; Farb *et al.*, 2010).

1.8. Mindfulness para redução do estresse em mulheres inférteis

Na população específica de mulheres inférteis, a eficácia dos programas para redução do estresse não está totalmente bem estabelecida. Em 1990, Domar *et al.* avaliaram (sem grupo controle) 54 mulheres que completaram um programa de tra-

tamento comportamental baseado na ativação da “resposta de relaxamento” e encontraram redução significativa na ansiedade, depressão e fadiga. Além disso, 34% das participantes ficaram grávidas dentro de 6 meses após a conclusão do programa (Domar *et al.*, 1990). Mais recentemente, em 2013, um ensaio clínico controlado (não randomizado) avaliou, em mulheres inférteis, o impacto de um MBP criado especificamente para esta população, o “Mindfulness-Based Program for Infertility”, e encontrou no grupo intervenção, mas não no controle, significativa diminuição nos sintomas depressivos, vergonha interna e externa, aprisionamento e derrota, além de melhora significativa nas habilidades de mindfulness e auto eficácia para lidar com a infertilidade (Galhardo *et al.*, 2013). Estudos randomizados com menos de 15 mulheres inférteis por grupo mostraram benefícios potenciais sobre “percepção do estresse” (Shahrestani *et al.*, 2012) e “ruminação” (Feili *et al.*, 2012). Em mulheres com amenorreia hipotalâmica funcional foi demonstrada melhora do estresse após a terapia cognitivo-comportamental (Michopoulos *et al.*, 2013) e após um MBP em mulheres com síndrome dos ovários policísticos (Stefanaki *et al.*, 2015), dois diagnósticos que se sobrepõem parcialmente à infertilidade, mas não delimitam a mesma população.

2. OBJETIVOS

Considerando o fato de que os estudos que avaliam as práticas baseadas em mindfulness em mulheres inférteis ainda possuem limitações importantes e que, apesar disso, os resultados são bastante otimistas e merecem uma investigação mais consistente, este estudo avaliou o efeito do MBP sobre marcadores comportamentais (sintomas de estresse, sintomas de depressão e BEG) e neuroendócrinos (cortisol e BDNF) do estresse em mulheres inférteis.

3. METODOLOGIA

3.1. Delineamento do estudo

Mulheres de 18 a 50 anos em tratamento de infertilidade no Setor de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da UFMG foram convidadas a participar do estudo no momento em que eram convocadas para iniciar o tratamento de fertilização *in vitro* (FIV) após um período de aproximadamente 3 anos em uma fila de espera. Apenas pacientes candidatas a FIV foram recrutadas. Aquelas que apresentavam disponibilidade para participar das sessões do MBP e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido preencheram os questionários (ISSL, BDI e PGWBI), coletaram amostras de cabelo (para dosagem do cortisol capilar) e sangue (para dosagem de BDNF sérico) antes do início do estudo. A seguir, foram randomizadas entre os dois grupos de estudo: grupo intervenção (GI), que participou do MBP e grupo controle (GC), que não participou. Após o período de intervenção, todas as participantes de ambos os grupos foram convocadas novamente para preencher os mesmos questionários e coletar amostras de cabelo e sangue para realização das mesmas dosagens. Os dados foram analisados através da comparação antes e depois entre os dois grupos. A Figura 5 apresenta o delineamento do estudo de forma esquemática.

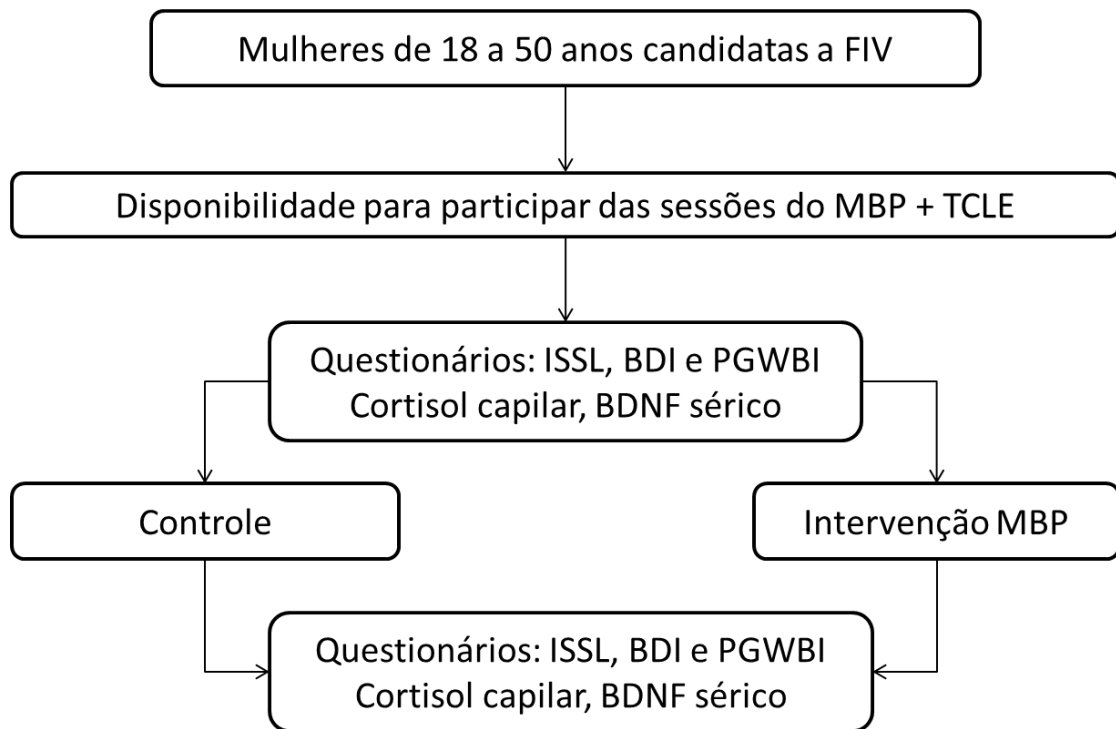


Figura 5: Delineamento do estudo

3.2. Aprovação e registro do estudo

Este ensaio clínico randomizado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (Decisão nº 903.582) e registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos, REBEC (RBR-7by76r) e na Plataforma Brasil (Registro CAAE: 35321414.0.0000.5149). Todas as pacientes incluídas neste estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

3.3. População

A população do estudo consistiu de mulheres com idade entre 18 e 50 anos com diagnóstico de infertilidade, definida como falha em engravidar apesar de atividade sexual regular sem métodos contraceptivos após um ano para mulheres com menos de 35 anos, ou 6 meses para mulheres acima de 35 anos (Zegers-Hochschild *et al.*, 2017). As participantes foram alocadas de outubro de 2013 a abril de 2016 e o período de intervenção foi de outubro de 2013 a junho de 2016. As causas de infertilidade das pacientes elegíveis para o estudo (n=178) foram: fator masculino (n=38), anovulação (n=19), obstrução tubária (n=26), endometriose (n=23), infertilidade sem causa aparente (n=55) e outras (n=17).

3.4. Randomização, alocação e cegamento

As participantes elegíveis que concordaram em se inscrever e assinaram o termo de consentimento foram divididas aleatoriamente em dois grupos: GI e GC. A randomização foi realizada através de duas listas de números aleatórios geradas por computador. As primeiras 54 participantes foram randomizadas sem qualquer restrição quanto à proporcionalidade dos grupos. O pessoal envolvido na alocação dos participantes recebeu envelopes sequenciais, opacos e lacrados, contendo o grupo de alocação e foi cegado para o conteúdo do envelope. Isso resultou em 35 alocações para o GI e 19 para o GC. As 124 participantes seguintes foram randomizadas utilizando-se uma proporção pré-especificada de 1: 1 entre os grupos.

3.5. Intervenção

A intervenção do estudo foi aberta, mas os resultados foram avaliados por questionários auto administrados e por ensaios bioquímicos realizados por pessoal cego para o grupo das participantes.

O GI participou de 10 encontros semanais consecutivos com duas horas de duração:

- Encontro 1: reunião introdutória onde foram preenchidos os questionários (ISSL, BDI, PGWBI), coletado cabelo (cortisol capilar) e sangue (BDNF sérico);
- Encontros 2 a 9: oito sessões do MBP (figura 6), onde foram utilizadas técnicas de meditação, relaxamento, visualização e biofeedback, seguindo protocolo baseado no “Mind-body Therapy” da Georgetown University - Washington DC (Saunders *et al.*, 2007) previamente validado no Brasil (Paiva *et al.*, 2015); Sant’Anna *et al.*, Manuscrito em preparação);
- Encontro 10: reunião de fechamento onde foram preenchidos os questionários (ISSL, BDI, PGWBI), coletado cabelo (cortisol capilar) e sangue (BDNF sérico).

O GC participou apenas dos encontros 1 e 10 (não participou do MBP).

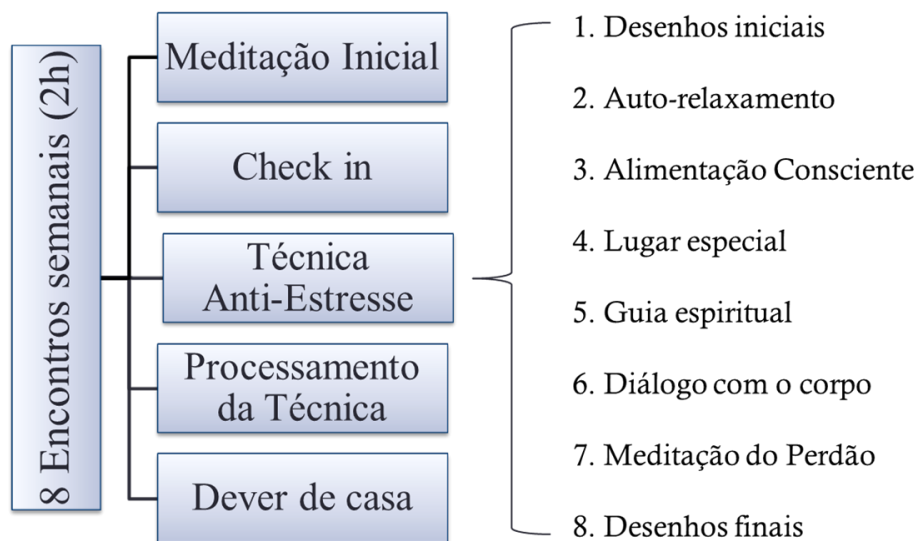


Figura 6: Etapas do programa baseado em mindfulness (MBP)

3.6. Avaliações

Foram avaliados sintomas de estresse e depressão, BEG, nível de cortisol no cabelo e nível sérico de BDNF nos encontros 1 e 10 (uma semana antes e uma semana depois do período do MBP). Todas as avaliações ocorreram no ambiente hospitalar e os questionários foram auto aplicados por meio do preenchimento manual de formulários impressos, sem interferência de outrem.

3.6.1. Estresse

Os sintomas de estresse foram avaliados através do “Inventário de Sintomas de Estresse para Adultos de Lipp” (ISSL), questionário desenvolvido e padronizado no Brasil que tem sido amplamente utilizado em pesquisas clínicas brasileiras e em diversos países (validado em espanhol e inglês) (Novaes Lipp, 2005). O ISSL é dividido em três partes, cada uma com foco em um período da vida anterior à aplicação do questionário: as últimas 24 horas (12 sintomas físicos e 3 psicológicos); a última semana (10 sintomas físicos e 5 psicológicos); e último mês (12 sintomas físicos e 11 psicológicos). Os sintomas foram avaliados individualmente pelas próprias participantes do estudo que, para cada sintoma escolhiam a resposta “Sim” (presente) ou “Não” (ausente). A Tabela 1 descreve os estágios de estresse do ISSL.

3.6.2. Depressão

Os sintomas de depressão foram avaliados através do BDI, questionário composto por 21 itens, cada um com quatro opções de resposta pontuadas de 0 a 3, referentes à semana anterior à aplicação do mesmo. O escore final é a soma da pontuação de todos os itens (mínimo de 0 e máximo de 63 pontos) e é proporcional à gravidade dos sintomas (Beck *et al.*, 1961). Pontos de corte recomendados por Beck: 0-9 indica ausência de depressão ou presença de sintomas depressivos mínimos; 10-18 sugere depressão leve; 19-29 sugere depressão moderada; 30-63 sugere depressão grave.

3.6.3. Bem-estar geral

O BEG foi avaliado através do PGWBI, questionário composto por 22 itens, cada um com seis opções de resposta pontuadas de 1 a 6, referentes ao mês anterior à aplicação do mesmo. O escore final é a soma da pontuação de todos os itens (mínimo de 22 e máximo de 132 pontos) e é proporcional ao BEG (Lundgren- Nilsson *et al.*, 2013).

3.6.4. Cortisol capilar

A coleta do cabelo e a extração do cortisol foram realizadas conforme métodos previamente validados (Veldhorst *et al.*, 2014). Um tufo de aproximadamente 100 fios de cabelo foi cortado na região do ápice do couro cabeludo o mais próximo possível do couro cabeludo e armazenado em papel alumínio à temperatura ambiente. Dois centímetros da porção proximal da amostra de cabelo de cada paciente foram picotados com tesoura cirúrgica e homogeneizados. Foi utilizada balança de alta precisão para a pesagem de 10 mg de cada amostra que foram diluídas em 1,0 ml de metanol em um tubo de ensaio de vidro que foi selado e incubado overnight por 16 horas a 52 °C para extrair o cortisol. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio de vidro aberto e incubado a 52 °C até a completa evaporação do metanol (~ 24 h). Foram acrescentados 100 µl de solução salina tamponada com fosfato (PBS) em cada amostra a ser analisada.

Os níveis de cortisol foram dosados por ELISA utilizando o protocolo Salivary ELISA Cortisol © (Alpco Diagnostics, Windham, NH). Resumidamente, 50 µl de cada

calibrador, controle e amostra foram adicionados em cada poço correspondente, em duplicata, seguido de 100 µl da solução contendo o anticorpo conjugado. A placa foi incubada durante 45 minutos à temperatura ambiente num agitador de placas (~ 200 rpm) e depois lavada 3 vezes com 200 µl de tampão de lavagem. Em seguida, foram adicionados 150 µl do substrato TMB a cada poço, a placa foi incubada num agitador de placas à temperatura ambiente até o calibrador A atingir a cor azul escuro e então 50 µl da solução “stop” foram adicionados a cada poço. A densidade óptica de cada poço foi imediatamente determinada utilizando um leitor de microplacas ajustado para leitura em comprimento de onda de 450 nm (Figura 7). Foi utilizada máscara facial durante todo o processo para evitar a contaminação das amostras com saliva. A reação cruzada com outros esteroides pelos anticorpos do kit não excede 13,6% (prednisolona-13,6%; corticosterona-7,6%; desoxicorticosterona e progesterona-7,2%; cortisona-6,2%; desoxicortisol e prednisona - 5,6%; dexametasona - 1,6%). Todas as amostras foram dosadas na mesma placa e o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 8%.

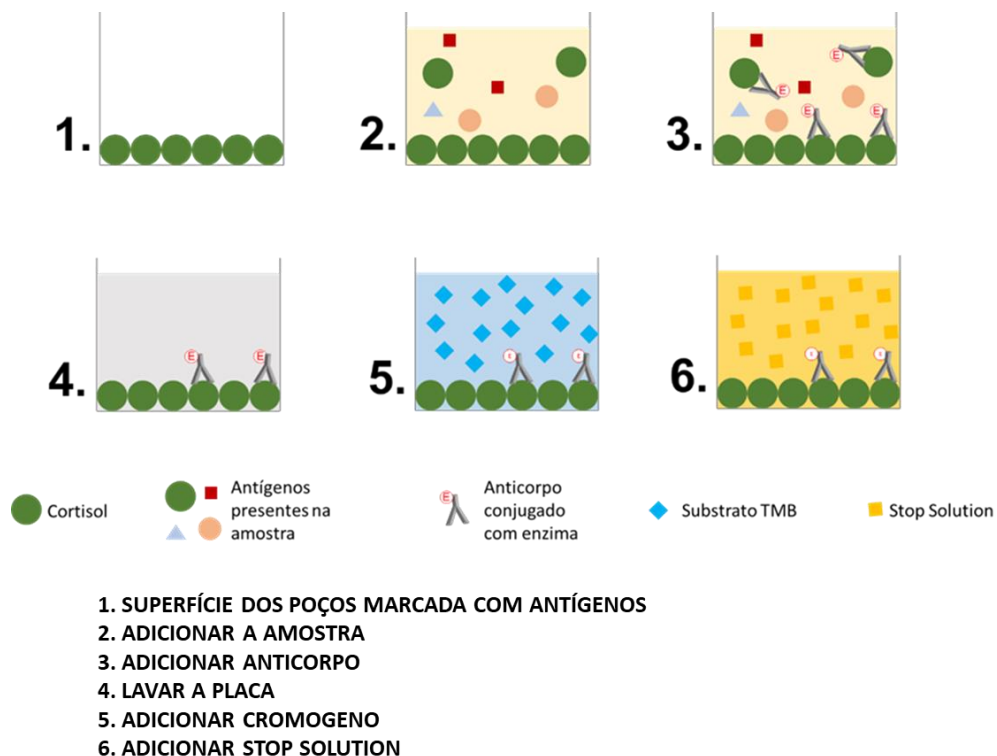
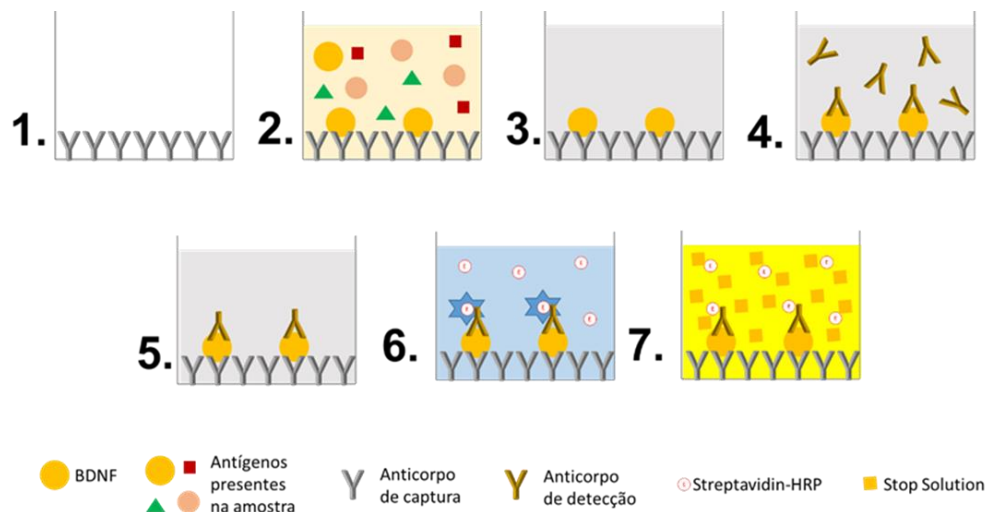


Figura 7: Dosagem de cortisol (ELISA competitivo)

3.6.5. BDNF sérico

Cinco ml de sangue foram coletados por venopunção entre sete e dez horas da manhã e centrifugados a 1000 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante (soro) foi transferido para criotubos e armazenado a 80°C negativos. O BDNF foi medido utilizando o protocolo BDNF DuoSet ELISA Humano / Rato - DY248 (R & D Systems, Minneapolis, EUA) previamente validado (Fontenelle *et al.*, 2012). Resumidamente, as amostras de soro foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas. Os poços da placa de ELISA foram revestidos com 100 µl do anticorpo de captura previamente diluído em PBS e a placa foi incubada durante a noite à temperatura ambiente. No dia seguinte a placa foi lavada três vezes com 400 µl de Tampão de Lavagem e foram adicionados 30 µl de Diluente Reagente a cada poço. A placa foi incubada à temperatura ambiente durante 1 hora, o passo de lavagem foi repetido e 100 µl de cada amostra ou padrões foram adicionados em cada poço. A placa foi incubada por 2 horas à temperatura ambiente, o passo de lavagem foi repetido e foram adicionados 100 µl do anticorpo de detecção em cada poço. Após 2 horas de incubação à temperatura ambiente o passo de lavagem foi repetido e 100 µl de Streptavidin-HRP foram adicionados a cada poço, seguindo-se por 20 minutos de incubação à temperatura ambiente com a placa protegida da luz. Em seguida, 50 µl de solução 2N de H₂SO₄ foram adicionados a cada poço para interromper a reação enzimática e a densidade óptica de cada poço foi imediatamente determinada utilizando um leitor de microplacas ajustado para leitura em comprimento de onda de 450 nm (Figura 8).



1. SUPERFÍCIE DOS POÇOS É MARCADA COM ANTICORPOS OVERNIGHT
2. ADICIONAR A AMOSTRA
3. LAVAR A PLACA
4. ADICIONAR ANTICORPO DE DETECÇÃO
5. LAVAR A PLACA
6. ADICIONAR STREPTAVIDIN-HRP
7. ADICIONAR STOP SOLUTION

Figura 8: Dosagem de BDNF (ELISA sanduiche)

3.7. Cálculo amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado durante o planejamento do estudo com base no desfecho primário. Para detectar uma diferença mínima de três sintomas positivos no questionário ISSL entre os dois grupos ou entre as duas medidas (pré e pós) de cada grupo com 90% de poder estatístico com nível de confiança de 95% foi calculada uma amostra de pelo menos 31 participantes por grupo. Como a análise planejada não poderia ser realizada sem os dados de seguimento pós-intervenção, o estudo foi encerrado apenas quando o número necessário de participantes havia comparecido à consulta de seguimento.

3.8. Análise Estatística

Os resultados do estudo foram analisados pelo princípio de intenção de tratar modificado, que inclui todos os indivíduos randomizados e sem perda de seguimento, independentemente da adesão ao tratamento (Del Re *et al.*, 2013). A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade de D'Agostino e

Pearson. As características iniciais foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney ou análise de variância (ANOVA) de Kruskal-Wallis com teste de Dunn, para variáveis quantitativas, e pelo teste do qui-quadrado com correção de continuidade ou teste exato de Fisher, para variáveis categóricas. Os efeitos da MBP versus não intervenção sobre as variáveis de desfecho foram avaliados por ANOVA para medidas repetidas, considerando a interação tempo x grupo. Utilizamos o pacote estatístico SPSS 22 e o limite de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Fluxo de Participantes:

Um total de 178 mulheres foram avaliadas e consideradas elegíveis para o estudo. Todas as participantes elegíveis foram randomizadas, 97 foram designadas para receber a intervenção MBP e 81 foram designadas para o grupo controle. Do grupo MBP, 8 participantes não receberam a intervenção alocada, 25 descontinuaram a intervenção e 35 perderam o acompanhamento. Do grupo controle, 43 mulheres perderam o acompanhamento. No final, 62 participantes do grupo MBP e 38 do grupo controle retornaram ao acompanhamento e foram disponíveis para análise (Figura 9). Sete mulheres foram submetidas a um ciclo de fertilização in vitro durante o período do estudo e duas delas (ambas do grupo MPB) retornaram ao acompanhamento do estudo. Destas, uma apresentou teste bioquímico de gravidez positivo e outra negativo.

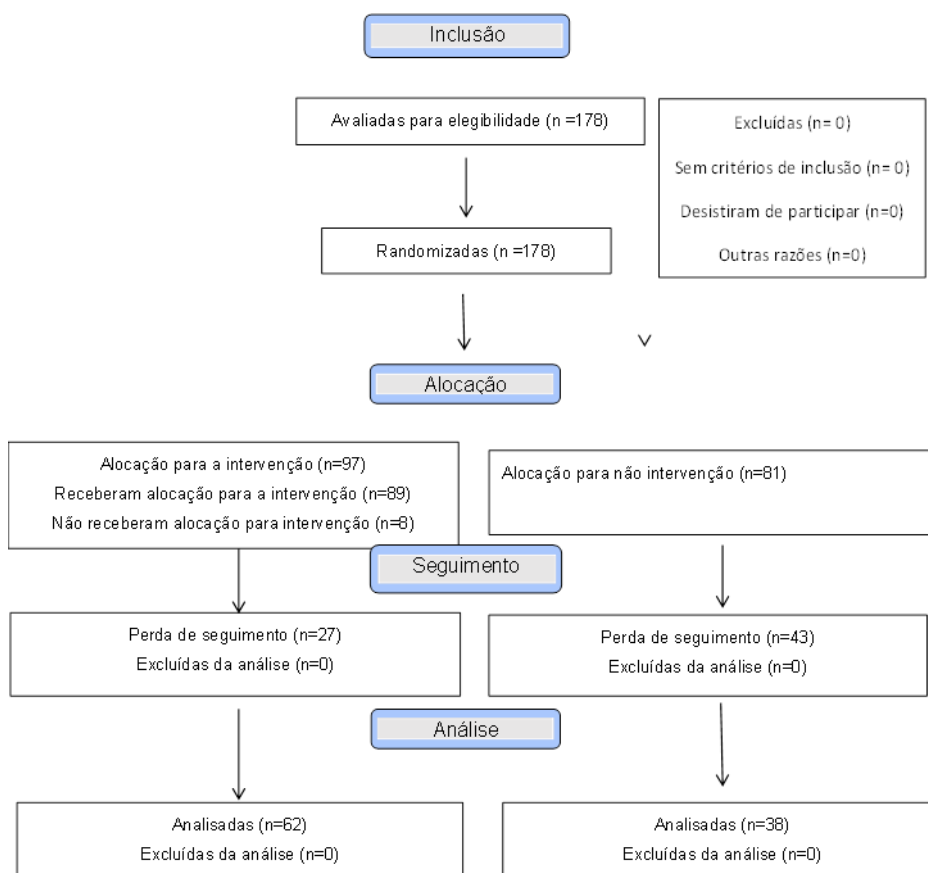


Figura 9: Fluxograma CONSORT 2010

4.2. Características basais:

Os grupos de estudo foram semelhantes em todas as características demográficas e clínicas, comparando os participantes que retornaram ao seguimento (Tabela 2) ou comparando todos os indivíduos randomizados (Tabela 3). Além disso, os dois grupos não apresentaram diferenças nos sintomas basais de estresse (Figura 10), sintomas depressivos (Figura 12), BEG (Figura 13), cortisol capilar ou níveis séricos de BDNF (Figura 14).

Tabela 2: Dados demográficos e clínicos basais dos dois grupos de estudo Esta tabela inclui apenas os participantes que retornaram ao acompanhamento. Variáveis quantitativas são expressas como média \pm desvio padrão. As variáveis categóricas são expressas como uma porcentagem dos participantes com essa variável disponível.

	Controle (n=38)	MBP (n=62)	Valor de p
Idade (anos)	37,0 \pm 6.5	37,4 \pm 5.3	0,530
IMC (kg/m ²)	30,8 \pm 5,7	29,8 \pm 5.2	0,544
Infertilidade feminina primária	11/28 (39%)	33/56 (59%)	0,142
Duração da infertilidade (anos)	9,1 \pm 5,2	7,5 \pm 3,8	0,621
Nível educacional			
Fundamental	6/35 (17%)	5/58 (9%)	0,346
Médio	18/35 (51%)	28/58 (48%)	
Superior	11/35 (31%)	25/58 (43%)	
Atividade física	14/31 (45%)	35/54 (65%)	0,124
Tabagismo	2/33 (6%)	0/54 (0%)	0,141
Consumo de álcool	10/36 (28%)	19/59 (32%)	0,822
Uso de antidepressivos	3/26 (12%)	9/48 (19%)	0,522
Fase do Estresse (ISSL)			
Sem estresse	13/35 (37%)	23/60 (38%)	0,686
Alerta	0/35 (0%)	1/60 (2%)	
Resistência	14/35 (40%)	27/60 (45%)	
Quase exaustão	8/35 (23%)	8/60 (13%)	
Exaustão	0/35 (0%)	1/60 (2%)	

Tabela 3: Dados demográficos e clínicos basais de todas as pacientes randomizadas para os grupos controle e intervenção. Variáveis quantitativas são expressas como média \pm desvio padrão. As variáveis categóricas são expressas como uma porcentagem dos participantes com essa variável disponível.

	Controle (n=81)	MBP (n=97)	Valor de p
Idade (anos)	37,4 \pm 5,9	36,7 \pm 5,6	0,496
IMC (kg/m ²)	29,6 \pm 5,6	29,7 \pm 6,4	0,687
Infertilidade feminina primária	31/60 (52%)	47/82 (57%)	0,619
Duração da infertilidade (anos)	7,9 \pm 4,1	7,1 \pm 3,6	0,453
Nível educacional			
Fundamental	8/68 (12%)	13/88 (15%)	0,744
Médio	30/68 (44%)	41/88 (47%)	
Superior	30/68 (44%)	34/88 (39%)	
Atividade física	31/65 (48%)	50/83 (60%)	0,175
Tabagismo	4/64 (6%)	2/81 (3%)	0,406
Consumo de álcool	23/71 (32%)	29/89 (33%)	0,980
Uso de antidepressivos	8/54 (15%)	12/67 (18%)	0,834
Fase do Estresse (ISSL)			
Sem estresse	26/71 (37%)	34/88 (39%)	0,660
Alerta	0/71 (0%)	1/88 (1%)	
Resistência	32/71 (45%)	39/88 (44%)	
Quase exaustão	12/71 (17%)		
Exaustão	1/71 (1%)	11/88 (13%) 3/88 (3%)	

4.3. Sintomas de estresse

Os sintomas de estresse foram analisados antes e após a intervenção nos dois grupos (controle, com N de 45 antes e 13 depois; mindfulness, com N de 54 antes e 15 depois). O número de sintomas recentes (últimas 24 horas) diminuiu na análise geral ($p < 0,01$), mas o efeito do tempo não diferiu significativamente entre os grupos ($F = 0,039$ para a interação tempo x grupo, $p = 0,894$, Figura 10A). Todavia, o MBP resultou em diminuição significativa dos sintomas de estresse na última semana ($F = 11,4$ para interação tempo x grupo, $p = 0,001$, Figura 10B) e no último mês ($F = 14,6$ para interação tempo x grupo, $p < 0,001$, Figura 10C). Em particular, a mediana do número de sintomas de estresse crônico presentes no mês anterior diminuiu de 6 (intervalo interquartil 2 a 9) antes do MBP para 2 (intervalo interquartil 1 a 4) após a intervenção. Por outro lado, o GC não apresentou alteração significativa nos sintomas de estresse entre a primeira e a segunda avaliação (Figura 10).

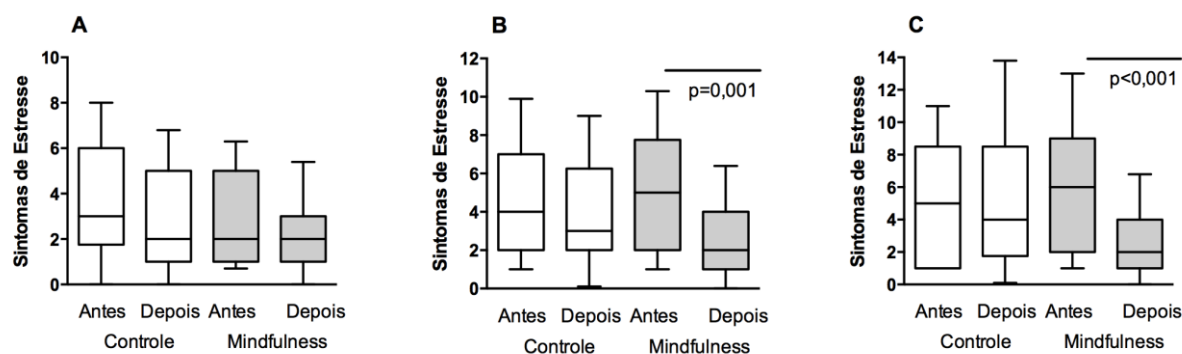


Figura 10: Sintomas de estresse com MBP (Mindfulness) versus nenhuma intervenção (Controle). Os gráficos de caixa representam os quartis e as barras de erro representam os centésimos 10 e 90 do número de sintomas positivos nas últimas 24 horas (A), semana (B) ou mês (C). Cada período de tempo tem uma lista específica de sintomas físicos e psicológicos que são verificados pelo entrevistado como estando presente ou ausente. Valores de P referem-se a análise de variância para medidas repetidas.

A Tabela 4 mostra o detalhamento dos sintomas físicos e psicológicos reportados antes e após o período de intervenção pelos dois grupos..

Tabela 4: Sintomas de estresse físico e psicológico antes e depois de nenhuma intervenção (controle) ou intervenção MBP. Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil. #p<0.001 X Antes (teste Wilcoxon's para amostras pareadas). *p<0.05 X Controle (teste Mann-Whitney para amostras independentes)

	Controle		Intervenção MBS	
	Antes(N=45)	Depois(N=13)	Antes(N=54)	Depois(N=15)
Últimas				
24 horas				
Físico	2 (1-4)	2 (1-3)	2 (1-3)	1 (0-2) #
Psicológico	1 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-1)	1 (0-1)
Total	3 (1-4)	2 (1-5)	3 (2-5)	2 (1-3) #
Última				
semana				
Físico	3 (1-4)	2 (1-4)	2 (1-4)	1 (0-2) #*
Psicológico	2 (1-3)	1 (1-2)	2 (1-3)	1 (0-2) #*
Total	4 (2-7)	3 (2-6)	5 (2-7)	2 (1-4) #*
Último mês				
Físico	2 (0-3)	0 (0-3)	2 (1-3)	1 (0-1) #*
Psicológico	2 (1-5)	2 (1-5)	3 (1-6)	1 (0-3) #*
Total	5 (2-9)	4 (2-8)	6 (2-9)	2 (1-4) #*

4.4. Fases do estresse

De acordo com a análise das variáveis associadas às fases do estresse em toda a população do estudo (Tabela 3), as pacientes em fase de resistência (fase 2) e quase exaustão / exaustão (fases 3 e 4) apresentaram menor qualidade de vida e mais sintomas depressivos. Pacientes em fase de resistência do estresse apresentaram maior nível de cortisol.

Tabela 5: Variáveis associadas às fases do estresse na população total do estudo

Fase do estresse	Sem estresse / Alerta (n=59)	Resistência (n=70)	Quase exaustão / Exaustão (n=27)
Idade (anos)	37 (34-41)	37 (34-41)	38 (34-42)
IMC (kg/m ²)	28.2(25.0-32.9)	30.7 (26.3-33.2)	28.6 (27.0-33.8)
Bem-Estar Geral (PGWBI)	97 (80-106)	78 (67-85)*	66 (56-74)*
Depressão (BDI)	9 (3-14)	13 (9-19)*	18 (12-24)*
Cortisol cabelo (ng/ml)	0.51 (0.36-0.86)	0.85 (0.63-1.07)*	0.41 (0.27-0.58)
BDNF soro (pg/ml)	8820 (7940-10130)	9320 (8180-10530)	9190 (8150-11180)

* p <0,05 X Sem Estresse / Alarme, ANOVA de Kruskal-Wallis e teste de Dunn

Antes da intervenção, ambos os grupos, GI (n=54) e GC (n=45) encontravam-se em fase de resistência (fase 2). Após a intervenção MBP o GI (n=15), mas não o GC (n=13), apresentou redução da intensidade de estresse para a fase de alerta (fase 1) (Figura 10).

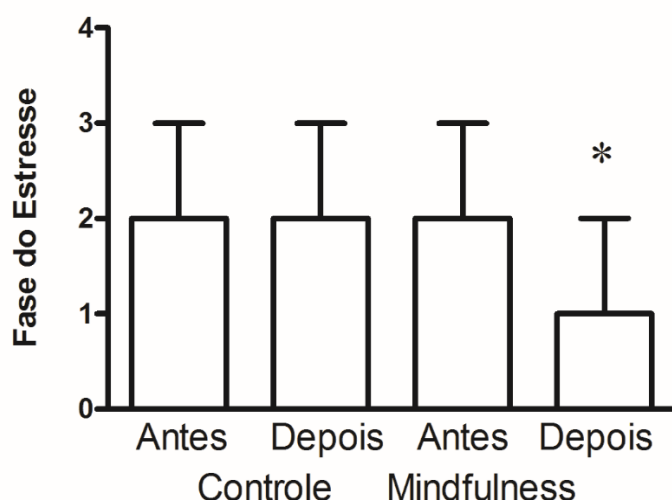


Figura 11: Fases do estresse avaliadas pelo ISSL antes e depois do MBP (Mindfulness) ou nenhuma intervenção (Controle). A altura das colunas corresponde à mediana e a barra de erro indica o terceiro quartil. *p <0,05 X Antes (teste de Wilcoxon)

4.5. Depressão

Os sintomas de depressão diminuíram apenas no grupo MBP: No GI (n=36) a pontuação do BDI reduziu de 12 (6,25 - 17) para 6,5 (1,5 - 10,75), com uma redução de 45% na mediana do escore do BDI após a intervenção MBP ($p = 0,001$). O GC (n=21) não apresentou alteração significativa nos sintomas de depressão entre a primeira e a segunda avaliação (Figura 12A). A pontuação do delta BDI (diferença entre os escores após e antes do período de intervenção MBP) no GI (n=36) e no GC (n=21) foi de -4 e -1, respectivamente ($p < 0,001$) (Figura 12B).

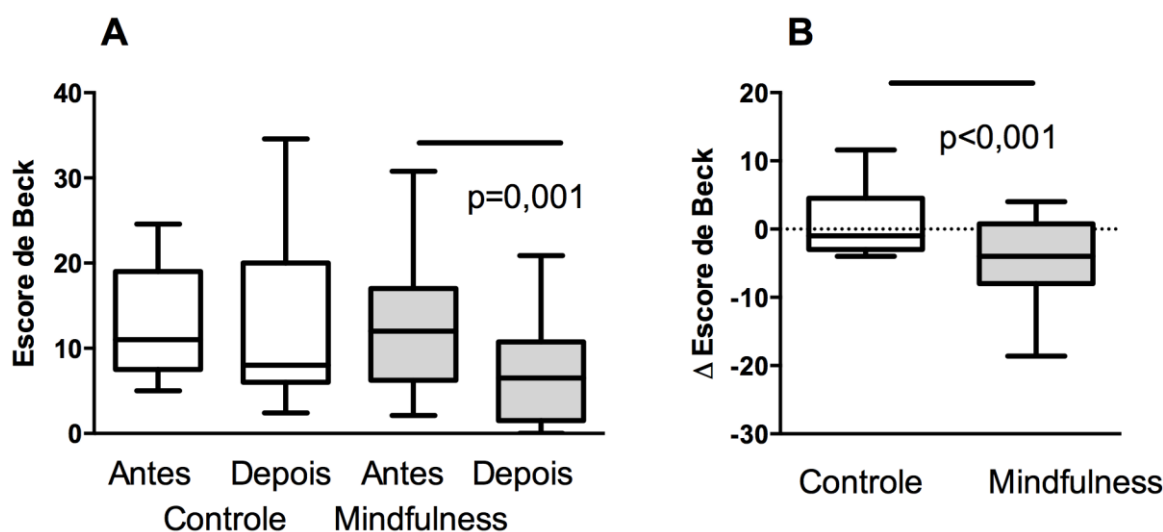


Figura 12: A) Sintomas de depressão com MBP (Mindfulness) *versus* nenhuma intervenção (Controle). Os gráficos de caixa representam os quartis e as barras de erro representam os centésimos 10 e 90 dos escores do Inventário de Depressão de Beck (BDI), e o valor de P refere-se a análise de variância para medidas repetidas. B) Variação dos escores do BDI (depois menos antes). O valor de P refere-se ao teste de Mann-Whitney para amostras independentes.

4.6. Bem estar geral

O grupo MBP teve melhora significativa no BEG. No GI (n=54) a pontuação do PGWBI aumentou de 82 para 97 pontos, um aumento de aproximadamente 19% após o MBP ($p = 0,003$), contrastando com nenhuma mudança significativa no GC (n=29) (Figura 13A). A pontuação do delta PGWBI (diferença entre os escores após e antes do período de intervenção MBP) foi de 9,5 no GI (n=54) e -1 no GC (n=29). A diferença entre essas pontuações foi de 10,5 ($p < 0,01$) (Figura 13B).

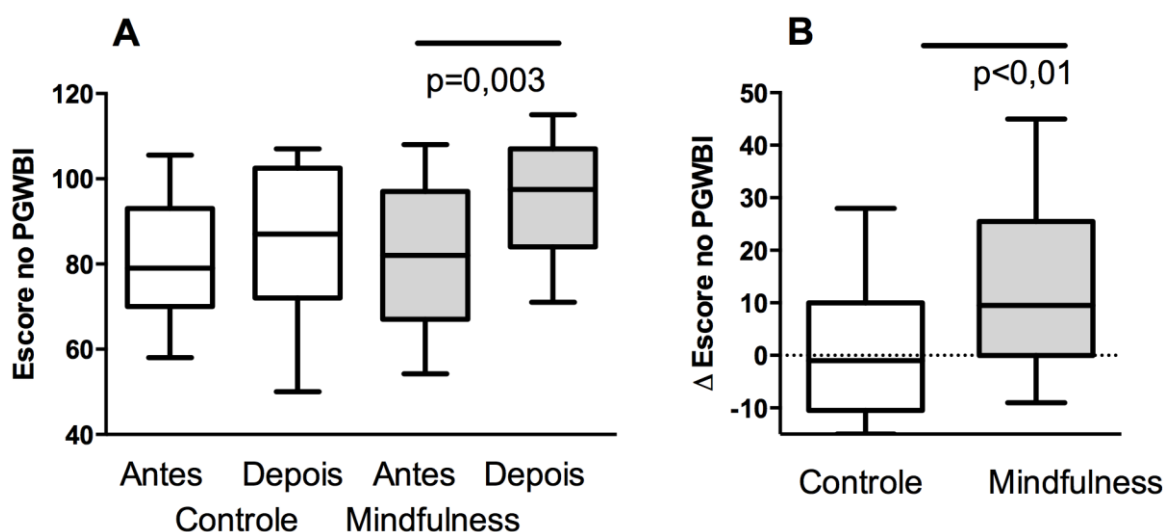


Figura 13: A) Bem-estar geral com MBP (Mindfulness) *versus* nenhuma intervenção (Controle). Os gráficos de caixa representam os quartis e as barras de erro representam os centésimos 10 e 90 dos escores do Inventário Psicológico do Bem-Estar Geral (PGWBI), e o valor de P refere-se a análise de variância para medidas repetidas. B) Variação de pontuações PGWBI (depois menos antes). O valor de P refere-se ao teste de Mann-Whitney para amostras independentes.

4.7. Cortisol capilar e BDNF

Os níveis de cortisol no cabelo no início do estudo foram maiores entre as mulheres com sintomas de estresse crônico no estágio de “resistência”, enquanto os níveis séricos de BDNF não variaram de acordo com a categoria de estresse. Além disso, os níveis de cortisol e de BDNF no soro não se alteraram significativamente após o MBP ou nenhuma intervenção (controle) (Figura 13). Esses resultados permaneceram inalterados após análises de sensibilidade excluindo mulheres com endometriose (Rocha *et al.*, 2017) ou usando drogas antidepressivas (Zhou *et al.*, 2017), que poderiam ter afetado os níveis séricos de BDNF (dados não apresentados).

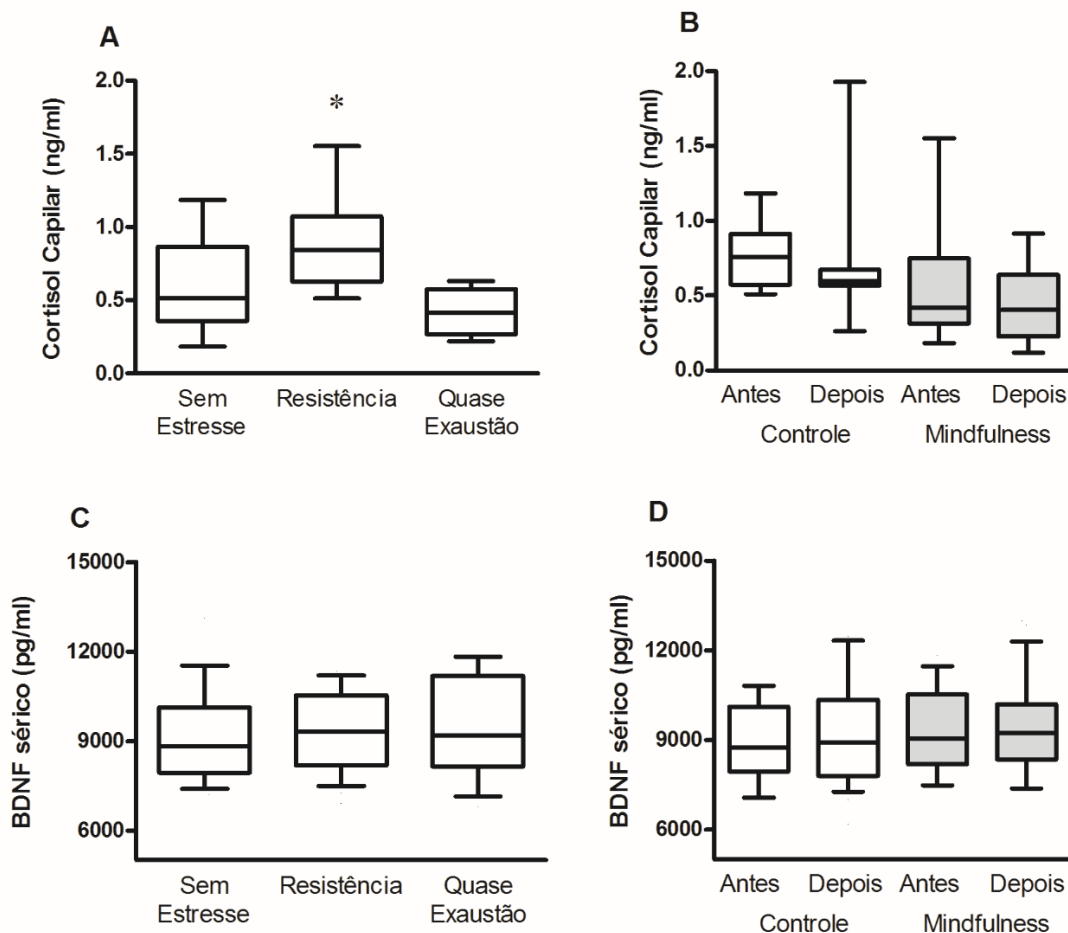


Figura 14: Níveis de cortisol capilar (A, B) e BDNF sérico (C, D). Os níveis basais (A, C) foram analisados de acordo com a categorização dos participantes pelo questionário de estresse em “Sem Estresse” ou diferentes estágios de estresse crônico, a saber, “Resistência” e “Quase-exaustão”. As categorias Alerta e Exaustão possuíam apenas um participante cada e, portanto, não foram analisadas.* $P < 0,05$ versus “Sem Estresse” (análise de variância de Kruskal-Wallis seguida do teste de Dunn). Não houve mudança significativa em qualquer biomarcador (B, D) após o programa baseado em mindfulness ou nenhuma intervenção (Controle).

5. DISCUSSÃO

Nossos achados sugerem que o MBP de 8 semanas é eficaz para a redução dos sintomas de estresse e depressão, bem como a melhora do BEG em mulheres inférteis, em concordância com evidências anteriores, mas a extrapolação dos resultados deve levar em consideração as peculiaridades da população do estudo.

5.1. Estresse

- Em alguns casais observamos uma discrepância no interesse pelo TRA que resultava em pouco apoio emocional dos parceiros às mulheres (raramente o inverso);
- Muitas mulheres apresentavam instabilidade financeira, pois os medicamentos para o TRA são caros e não cobertos pelo seguro-saúde no Brasil (Tavares *et al.*, 2016) o que constitui mais um fator de estresse (Serwinski *et al.*, 2016);
- Mulheres que procuraram o nosso serviço após fracassos nas tentativas de TRA em outros serviços já passaram pelo ciclo vicioso de expectativa de gravidez e falha do TRA, o que pode ser um dos fatores mais estressantes do TRA: a prevalência de transtornos depressivos e ansiosos em mulheres antes de um novo curso de TRA pode chegar a 40% (Chen *et al.*, 2004);
- As participantes foram recrutadas após uma lista de espera de cerca de 3 anos para a FIV. A duração da infertilidade foi superior a 7 anos e a média de idade foi de 37 anos. Esses dados refletem o longo período de espera e, por conseguinte, a crescente pressão imposta pelo avanço da idade e a consequente queda nas taxas de sucesso do tratamento (Hourvitz *et al.*, 2009).

Em relação à avaliação do estresse, existem questionários que avaliam especificamente o estresse relacionado à infertilidade, como o “Fertility Problem Inventory” (Newton *et al.*, 1999), onde a avaliação do estresse é baseada em aspectos relacionados à infertilidade. Esse questionário vem sendo utilizado em estudos com este foco de avaliação, com resultados bem interessantes, que demonstram o quanto o estresse pode estar diretamente relacionado à infertilidade (Karaca e Unsal, 2015; Newton *et al.*, 1999). Optamos por utilizar o ISSL, pois este

questionário nos propicia uma avaliação mais ampla do estresse que abrange, além do diagnóstico global, outras características do estresse, como o seu estágio de progressão e a diferenciação entre seus aspectos físicos e psicológicos. Os resultados obtidos através dessa avaliação mais ampla nos permitiram, além de uma melhor caracterização da nossa população de mulheres inférteis, a obtenção de informações que foram de extrema relevância como, por exemplo, a mudança de um estágio de “distress” para um estágio de “eustress”, o que será discutido em detalhes posteriormente.

No presente estudo, a análise da subpopulação específica de mulheres inférteis submetidas ao TRA demonstrou uma correlação significativa entre a participação no MBP e a redução dos sintomas de estresse, conforme descrito na Tabela 3, sugerindo que o MBP de 8 semanas pode ser utilizado como mais uma abordagem para a redução do estresse nesse grupo de pacientes. Além disso, a intensidade do estresse também foi reduzida. Na avaliação inicial, os grupos de intervenção e controle encontravam-se na fase de resistência do estresse (fase 2). Após o período de intervenção apenas o GI apresentou redução da intensidade do estresse para a fase de alerta (fase 1). O impacto da redução do estresse da fase de resistência para a fase de alerta é extremamente significativo, pois corresponde a uma mudança de um estado de “distresse” (estresse negativo) para um estado de “eustress” (estresse positivo): a fase de resistência é caracterizada por sintomas físicos e/ou emocionais secundários à tentativa do organismo de restabelecer a homeostase e a fase de alerta é caracterizada por uma resposta adrenérgica de curto prazo que, além de não estar associada ao sofrimento, pode estar associada a um sentimento de satisfação e plenitude (Novaes Lipp, 2005). Outro achado que também corroborou as evidências de que o estresse agudo, em oposição ao estresse crônico, não está relacionado ao prejuízo emocional, foi o de que as pacientes com estresse crônico apresentaram menor índice de BEG em comparação com as pacientes sem estresse ou com estresse agudo.

Através das técnicas dos MBPs os participantes são treinados a estabelecer uma nova visão das suas emoções, com curiosidade e sem julgamento. Independentemente das diferentes estratégias de coping desenvolvidas por cada indivíduo (Daubenmier *et al.*, 2014), a utilização dessas técnicas está diretamente relacionada à redução do estresse secundária do desenvolvimento de uma habilidade chamada

de “Capacidade de Reavaliação” que é a capacidade individual de transformar eventos estressantes em eventos benéficos, dando um novo significado e perspectiva ao sofrimento (Kessler, 2003; Hasin *et al.*, 2018). Estudos de neuroimagem utilizando imagens de ressonância magnética funcional demonstraram que indivíduos que praticam mindfulness apresentam menor reatividade ao estímulo emocional negativo, o que os protege do risco psicológico para depressão e concluíram que a prática de mindfulness pode ser protetora em situações estressantes (Paul *et al.*, 2013).

5.2. Cortisol

Na população total do estudo as participantes em fase de resistência ao estresse (fase 2) apresentaram altos níveis de cortisol no cabelo no início do estudo, conforme esperado, uma vez que o nível de cortisol na maioria dos casos aumenta em resposta ao estresse crônico como consequência da ativação do eixo HPA. As participantes em estágio de exaustão não apresentaram níveis elevados de cortisol pois esta fase está relacionada principalmente à ativação adrenérgica crônica (Tabela 1).

Como o cortisol está relacionado à fase de resistência (fase 2) e ocorreu uma redução da intensidade do estresse no GI da fase de resistência para a fase de alerta (fase 1), era esperada uma redução no cortisol capilar nesse grupo após a intervenção, o que não ocorreu. Embora o estresse e o cortisol capilar tenham sido avaliados ao mesmo tempo (uma semana após o final do período do MBP), esses dois parâmetros refletem diferentes períodos da vida do indivíduo: as fases de alerta e resistência do estresse, avaliadas pelo ISSL estão baseadas na avaliação das últimas 24 horas e última semana de vida do indivíduo, respectivamente (ambas após o final do período do MBP); Por outro lado, o nível de cortisol capilar reflete os dois últimos meses de vida (correspondendo a quase todo o período do MBP). Talvez seja necessário mais tempo entre o final do período de intervenção e a coleta de cabelo para se conseguir detectar uma possível redução no cortisol secundária à redução da intensidade do estresse. Em relação à dosagem do cortisol a nível periférico (não avaliada no presente estudo), foi realizado um estudo em 2016 que avaliou a eficácia do cortisol plasmático como marcador bioquímico das mudanças de humor e apresentou evidências que sugerem que o cortisol não é um marcador útil

para prever alterações do humor relacionadas à hiperreatividade funcional (Piacentini *et al.*, 2016).

5.3. BDNF

O BDNF está relacionado à reação de estresse e aos mecanismos de coping (Herman *et al.*, 1989; Jacobson e Sapolsky, 1991; Young *et al.*, 1991; Nibuya *et al.*, 1995). Em nossa população de estudo os níveis séricos de BDNF não foram relacionados à fase do estresse (Tabela 2). Nós avaliamos se os níveis séricos de BDNF seriam afetados pelo MBP e não encontramos nenhuma mudança nos níveis séricos de BDNF uma semana após a conclusão do MBP em comparação com uma semana antes do início da intervenção. Esse resultado é semelhante ao estudo de Turakitwanakan que avaliou a variação do BDNF após a prática de meditação (Turakitwanakan *et al.*, 2015). Da mesma forma, um estudo feito com ciclistas que avaliou a eficácia do BDNF plasmático como marcador bioquímico das mudanças de humor detectou liberação aguda de BDNF durante o exercício e mostrou que o treinamento intensificado melhorou o estado de humor dos atletas, porém sem modificar seus níveis plasmáticos de BDNF e concluiu que “o humor muda antes das concentrações plasmáticas de BDNF” (Piacentini *et al.*, 2016). A latência de tempo para mudanças no BDNF sérico em resposta a intervenções comportamentais e cognitivas não é clara e provavelmente varia de acordo com a condição de saúde do indivíduo e o tipo de terapia (Turakitwanakan *et al.*, 2015; Sanada *et al.*, 2016; Håkansson *et al.*, 2017; Yamada *et al.*, 2012). No presente estudo as amostras de sangue foram coletadas uma semana após o término da intervenção MBP. Talvez seja necessário mais tempo entre o final do período de intervenção e a coleta de sangue para detectar no sangue periférico uma possível modificação na produção de BDNF pelo sistema nervoso central.

Foi demonstrado que a elevação do BDNF plasmático está relacionada à endometriose (endometrioma ovariano) em mulheres com dor pélvica (Rocha *et al.*, 2017). Nossos resultados para a análise do BDNF incluindo e excluindo as pacientes com endometriose foram semelhantes.

Alguns estudos sugerem que o uso de drogas antidepressivas está relacionado a modificações nos níveis de BDNF (Zhou *et al.*, 2017). Entretanto, estudo que comparou os níveis plasmáticos e séricos de BDNF em pacientes deprimidos durante o

tratamento com antidepressivos mostrou que o BDNF em amostras de soro não foi alterado pelo uso de antidepressivos, em contraste com o aumento do BDNF dosado em amostras de plasma (Piccinni *et al.*, 2008). Em nosso estudo, o uso de antidepressivos pelos participantes foi semelhante nos dois grupos (GI e GC) e analisamos o BDNF em amostras de soro. No entanto, a fim de reforçar os nossos resultados, fizemos as análises estatísticas incluindo e excluindo as participantes que usaram medicamentos antidepressivos e todos os resultados foram semelhantes.

5.4. Depressão

A melhora dos sintomas depressivos após a intervenção MBP foi um achado importante do presente estudo. Segundo a OMS além de ser um dos mais prevalentes dentre os transtornos mentais, a depressão é a principal causa de incapacidade em todo o mundo (Who, 2018) e afeta mais mulheres do que homens (Kessler, 2003; Hasin *et al.*, 2018). Em relação à população de mulheres em TRA, um estudo que avaliou a prevalência de transtornos depressivos e ansiosos específicos em mulheres antes de um novo curso de TRA encontrou 23,2% de transtorno de ansiedade generalizada e 17,0% de depressão (os dois transtornos mais prevalentes na população estudada) (Chen *et al.*, 2004). Outro estudo, cuja população foi de mulheres inférteis e também utilizou o questionário BDI para avaliação da depressão, encontrou uma média de 21 pontos (depressão moderada) no momento anterior às intervenções propostas (Faramarzi *et al.*, 2008). No presente estudo a mediana da pontuação do BDI no momento anterior à intervenção foi de 12 pontos (depressão leve). A pontuação do BDI se correlacionou diretamente com a fase do estresse, em concordância com evidências anteriores de que a depressão está presente, em geral, em pacientes com estresse em fases mais avançadas (Novaes Lipp, 2005). É sabido que pacientes em TRA com fases avançadas de estresse apresentam altos índices de adiamento ou mesmo cancelamento do TRA (Gameiro *et al.*, 2012). Em se considerando essa afirmação aliada ao fato de nossas pacientes terem sido recrutadas após uma fila de espera de aproximadamente três anos e antes de iniciar a FIV, é possível que mais pacientes em fases avançadas de estresse tenham adiado ou cancelado o TRA, não tendo sido recrutadas para o estudo, o que justificaria a menor pontuação no BDI (que avalia sintomas de depressão) no nosso estudo. Apesar disso, foi demonstrada redução significativa dos sintomas depressivos relacionada à

participação no MBP (não relacionada ao uso de antidepressivos conforme já descrito anteriormente).

Provavelmente esse benefício está relacionado a algumas habilidades adquiridas através das técnicas do MBP: autocompaixão; concentração; redução dos pensamentos repetitivos ("ruminação"); consciência dos objetivos de vida como algo pontual; desenvolvimento da capacidade de descentramento (observação à distância dos sentimentos e pensamentos); e redução da reatividade cognitiva (resposta exagerada a acontecimentos diários) (Demarzo *et al.*, 2017). As duas últimas habilidades são especialmente significativas porque a reatividade cognitiva ao estresse (que interfere nos tipos de pensamentos, inferências, interpretações e atitudes) pode exacerbar os sintomas depressivos e aumentar a vulnerabilidade do indivíduo à depressão (Scher *et al.*, 2005), além de desencadear estados disfóricos (mudança de estado de espírito caracterizada por sentimentos desagradáveis e mau humor) que estão diretamente relacionados à ativação de padrões de pensamentos depressivos (Gotlib e Joormann, 2010; Paul *et al.*, 2013). De fato, a presença de reatividade cognitiva antes de um evento estressante pode inclusive prever o início de episódios depressivos após o evento (Scher *et al.*, 2005). O desenvolvimento da capacidade de descentramento permite a interrupção dos estados disfóricos e a redução da reatividade cognitiva (Raes *et al.*, 2009).

5.5. Bem estar geral

O presente estudo demonstrou que as participantes do MBP tiveram um aumento no BEG. Esse resultado corrobora estudos anteriores que demonstraram melhora na qualidade de vida após o MBP (Henderson *et al.*, 2012; Paiva *et al.*, 2015; Stefanaki *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). Estudo randomizado e controlado que avaliou os efeitos mediadores da prática de mindfulness na melhora do BEG e da qualidade de vida demonstrou a relação direta desses desfechos com dois mecanismos mediadores: atenção plena e aceitação sem julgamentos, ambos diretamente relacionados à prática de Mindfulness (Nyklícek e Kuijpers, 2008).

5.6. Mindfulness

Os primeiros estudos sobre a eficácia das técnicas de mindfulness foram feitos por John Kabat-Zinn há mais de 30 anos (Kabat-Zinn, 1982; Miller *et al.*, 1995). Em

2008, um estudo realizado com mulheres inférteis que comparou o uso de uma terapia cognitivo-comportamental de 10 sessões (utilizando técnicas semelhantes às técnicas de mindfulness) com o tratamento medicamentoso convencional (utilizando fluoxetina 20 mg/dia por 90 dias), e teve como desfecho a redução de sintomas de depressão e ansiedade, chegou à conclusão de que “a terapia cognitivo-comportamental não foi apenas uma alternativa confiável mas também foi superior à fluoxetina na resolução ou redução da depressão e ansiedade em mulheres inférteis” (Faramarzi *et al.*, 2008). Estudos recentes, utilizando técnicas de neuroimagem funcional demonstraram que as áreas cerebrais mais relevantes ativadas por práticas de mindfulness são: a ínsula, relacionada à consciência do próprio corpo; várias áreas do córtex pré-frontal, relacionadas à regulação das emoções; e córtex cingulado anterior, relacionado à atenção (Paul *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2018). Áreas classicamente relacionadas à regulação emocional, como a amígdala e o hipocampo, também estão envolvidas nos mecanismos de mindfulness. Em 2011, um estudo de revisão de Hölzel *et al.* identificou alguns mecanismos-chave por meio dos quais a prática de mindfulness pode afetar a saúde: regulação da atenção; consciência corporal; regulação emocional por aumento da reavaliação positiva e não reatividade às experiências internas; e mudança de perspectiva de "self" (Tabela 6) (Hölzel *et al.*, 2011).

Tabela 6: Áreas cerebrais ativadas e mecanismos associados à prática de mindfulness (Holzel BK, 2011)

Instruções Práticas	Mecanismos	Áreas Cerebrais Associadas
Manter a atenção focada em um ponto específico	Regulação da atenção	Cortex cingular anterior
Sustentar a atenção na respiração, nas sensações do corpo e nas emoções	Consciência corporal	Junção temporoparietal cortical Ínsula
Criar novas reações para as emoções: com aceitação e sem julgamentos	Regulação emocional: Reavaliação	Córtex pré-frontal dorsal
Observar à distância o que está acontecendo na consciência: sem reagir às experiências internas	Regulação emocional: Exposição Extinção Reconsolidação	Amígdala Hipocampo
Desconectar-se de uma autoimagem persistente	Mudança na perspectiva do "self"	Córtex cingular posterior Ínsula

As terapias baseadas em mindfulness têm efeito sobre sintomas e mecanismos compartilhados por condições de saúde diversas e podem ser recomendadas como intervenções complementares dentro de um plano terapêutico, mas não devem substituir as intervenções terapêuticas convencionais (Malinowski, 2013). Uma recente revisão Cochrane concluiu que os efeitos de intervenções psicológicas e educacionais sobre a saúde mental de mulheres inférteis são incertos devido à baixa qualidade das evidências existentes (Verkuijlen *et al.*, 2016). De fato, apenas estudos observacionais, ensaios não randomizados ou pequenos RCTs com alto risco de viés avaliaram tais intervenções no grupo específico de pessoas subférteis (Feili *et al.*, 2012; Galhardo *et al.*, 2013; Shahrestani *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2016; Pascoe *et*

al., 2017). O presente estudo apresenta como principais pontos fortes metodológicos: o projeto RCT com verdadeira randomização, o poder estatístico adequado da amostra analisada, o cegamento do pessoal envolvido na alocação e avaliação de resultados, e a análise de intenção de tratamento modificada.

5.7 Limitações

Apesar disso, nosso estudo apresenta algumas limitações. O viés de execução não pode ser descartado porque as características intrínsecas do MBP não permitem o cegamento dos participantes. No entanto, esse risco é parcialmente mitigado pelo uso de questionários objetivos que enfocam a presença ou ausência de sintomas, em vez de desconforto percebido. Também devemos reconhecer o risco de viés de perda, uma vez que 44% dos participantes randomizados perderam o acompanhamento. No entanto, as características basais dos grupos MBP e controle foram semelhantes quando comparamos apenas as participantes restantes que foram analisadas. O viés de perda pode afetar os resultados quando a principal razão para o abandono é alguma variável que também influencia os resultados. Neste estudo, pode-se argumentar que as participantes que receberam os benefícios do MBP tinham maior probabilidade de permanecer no programa e retornar ao acompanhamento, o que nos levou a superestimar os benefícios da intervenção. No entanto, podemos supor que as participantes do GC que permaneceram no estudo tenham maior probabilidade de serem mais resilientes. Ainda assim, o GC não apresentou melhora significativa no estresse ou nos sintomas depressivos.

6. CONCLUSÕES

Com base em nossos resultados, concluímos que a participação no MBP foi efetiva em melhorar o BEG e reduzir os sintomas de estresse (físicos e psicológicos), a intensidade do estresse e os sintomas de depressão em mulheres inférteis.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O refinamento dos MBPs para que possam atuar em alvos fisiológicos e psicológicos mais específicos é de fundamental importância para a melhora da sua eficácia terapêutica. Estudos bem desenhados maiores são necessários para melhor elucidação dos mecanismos relacionados aos MBPs

Finalmente, o objetivo do presente estudo não foi avaliar o efeito do MBP no sucesso dos TRA. No entanto, foi demonstrado na literatura que o estresse está associado ao aumento do risco de infertilidade e evidências sugerem que a capacidade em lidar com o estresse pode estar relacionada à taxa de sucesso após o tratamento de infertilidade (Lynch *et al.*, 2014). Alguns estudos mostraram uma associação entre depressão e resultados negativos do tratamento para infertilidade (Demyttenaere *et al.*, 1992; Thiering *et al.*, 1993). Há quase 20 anos, Domar *et al.* demonstraram que a utilização de intervenções psicológicas pode aumentar os índices de concepção em mulheres em tratamento de infertilidade (Domar *et al.*, 2000). O mesmo autor constatou, em 2011, o aumento da taxa de gravidez entre mulheres aleatoriamente designadas para um “programa mente/corpo” durante o tratamento de FIV (Domar *et al.*, 2011).

Frente a esta realidade, consideramos importante a realização de estudos que venham a esclarecer melhor as questões sobre a relação entre estresse e infertilidade, seus mecanismos e também o efeito do tratamento de estresse nos resultados do TRA.

ANEXO A

Termo de Consentimento Livre e Informado

Efeitos da "Mind Body Therapy" sobre indicadores comportamentais e neuroendócrinos do estresse em mulheres inférteis e sobre a redução do índice de massa corporal após a orientação de dieta e exercícios naquelas com sobrepeso e obesidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Este estudo pretende avaliar se o tratamento antiestresse "Mind Body Therapy" (MBT) realizado durante 12 semanas é capaz de reduzir o nível de estresse em mulheres que estão passando por tratamento para engravidar. Esse conhecimento poderá auxiliar no desenvolvimento de novas opções para o alívio do estresse nas pessoas com infertilidade. O efeito da MBT também será avaliado em particular nas mulheres com sobrepeso ou obesidade, para verificar se a MBT ajuda a pessoa a seguir melhor a dieta e a prática de exercícios físicos e favorece a perda de peso.

Após avaliação inicial, as pessoas que preencherem os critérios para participar do estudo (idade igual ou maior que 18 anos, infertilidade [definida como falha de ocorrência de gravidez após um ano de atividade sexual regular, sem utilização de métodos contraceptivos] e estar em avaliação e/ou tratamento de infertilidade no Setor de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da UFMG) serão divididas por sorteio em dois grupos. O primeiro grupo (G1) iniciará imediatamente as sessões de MBT. Dois questionários serão preenchidos e amostras de cabelo e sangue serão obtidas para dosagens hormonais antes e após a conclusão do programa de MBT. O segundo grupo (G2) será agendado para iniciar as sessões de MBT, se assim o desejar, somente após aguardar 12 semanas, incluindo o preenchimento dos questionários e a obtenção de amostras para dosagens hormonais antes e após o período de espera. As participantes que tiverem sobrepeso ou obesidade serão con-

vidadas a aderir a uma dieta com restrição de calorias associada à prática de exercícios físicos. A dieta e os exercícios deverão ser seguidos durante as 12 semanas de duração da MBT (GI) ou de espera (GC).

SIGILO DOS DADOS

Todos os seus dados serão confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste projeto terão acesso a estas informações, que serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

BENÉFICIOS DA PESQUISA

A pesquisa não tem o objetivo de trazer benefício direto para as pessoas que dela participarem. Porém, o conhecimento que for obtido por meio deste estudo poderá ajudar no tratamento de outras pessoas com infertilidade.

RISCOS

A coleta de sangue será feita de modo seguro, sem risco para a saúde. Entretanto, poderão ocorrer dor e hematoma no local da punção. Em estudos anteriores com as técnicas de MBT foi observada a ocorrência de pensamentos indesejados (15%), medo de perder o controle (9%), sensações perturbadoras (4%) e contrações musculares (4%). Entretanto, em nossa experiência anterior com grupos semelhantes não foram relatados efeitos adversos significativos ou que justificassem a interrupção das atividades do grupo.

DESPESAS

Não está prevista qualquer forma de remuneração para as voluntárias. Todas as despesas específicas relacionadas com o estudo são de responsabilidade do Laboratório de Reprodução Humana da Universidade Federal de Minas Gerais. O estudo não acarretará nenhuma despesa extra às voluntárias. As participantes receberão uma ajuda de custo para o transporte nos dias de atividades da pesquisa.

DEMAIS ESCLARECIMENTOS

Você dispõe de total liberdade para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir durante a pesquisa. Você poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. A aceitação ou não da participação neste estudo não influenciará no seu tratamento.

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro estar participando voluntariamente do projeto de pesquisa descrito acima.

Declaro que entendi todas as explicações que me foram dadas de forma clara e simples, inclusive permitindo que eu realizasse todas as perguntas e fizesse todas as observações que achei pertinentes para entender o que acontecerá durante a realização deste estudo.

Estou ciente que não serei penalizada se me recusar a participar do projeto e que serei informada em detalhes e com antecedência sobre possíveis mudanças referentes ao protocolo de pesquisa que venham influenciar minha decisão de participar ou não do estudo.

Estou ciente de poder me desligar deste projeto a qualquer momento, sem que haja prejuízo para o tratamento de infertilidade que me foi indicado.

Estou ciente que a minha participação no projeto poderá ser suspensa, a critério médico, quando houver algum fato significativo que possa aumentar o desconforto, efeitos colaterais ou riscos para a minha saúde.

Estou ciente que quaisquer informações obtidas durante a realização deste projeto que se refiram diretamente a mim são verdadeiras e permanecerão confidenciais, como previsto em lei. Concordo que os dados obtidos durante o projeto sejam publicados em literatura médica, sob condição de que minha identidade seja preservada.

Por este consentimento, confirmo que estou satisfeita com as informações recebidas e que compreendo todos os riscos e benefícios decorrentes da participa-

ção neste projeto de pesquisa. Por tais condições, consinto em participar do projeto intitulado *Efeitos da "Mind Body Therapy" sobre indicadores comportamentais e neuroendócrinos do estresse em mulheres inférteis e sobre a redução do índice de massa corporal após a orientação de dieta e exercícios naquelas com sobrepeso e obesidade.*

Não havendo dúvidas, dato e assino abaixo:

Sra. _____

Testemunhas: Dr. _____ CRM _____

Dr. _____ CRM _____

Pesquisadores responsáveis:

Prof. Fernando Marcos dos Reis, Dra. Simone França Nery, Enf. Edna Mariz Câmara Sant'Anna.

Tel.: 3409-9485

Hospital das Clínicas da UFMG - Setor de Reprodução Humana, 9º andar, ala norte.

Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais

Tel.: 3499-4592 e 3499-4027

Unidade Administrativa II – 2º andar Sala 2005

Avenida Antônio Carlos 6627, Pampulha. BH/MG 31270-901

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUTRY, A. E. et al. Gender-specific impact of brain-derived neurotrophic factor signaling on stress-induced depression-like behavior. **Biol Psychiatry**, v. 66, n. 1, p. 84-90, Jul 2009. ISSN 1873-2402. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19358977> >.

BECK, A. T. et al. An inventory for measuring depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 4, p. 561-71, Jun 1961. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13688369> >.

CAMARGOS, A. F. et al. **Anticoncepção, endocrinologia e infertilidade: soluções para as questões da ciclicidade feminina**. Belo Horizonte: Coopmed, 2011. ISBN 978-85-7825-033-1.

CHEN, T. H. et al. Prevalence of depressive and anxiety disorders in an assisted reproductive technique clinic. **Hum Reprod**, v. 19, n. 10, p. 2313-8, Oct 2004. ISSN 0268-1161. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15242992> >.

CRANE, R. S. et al. What defines mindfulness-based programs? The warp and the weft. **Psychol Med**, v. 47, n. 6, p. 990-999, Apr 2017. ISSN 1469-8978. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28031068> >.

DAUBENMIER, J. et al. It's not what you think, it's how you relate to it: dispositional mindfulness moderates the relationship between psychological distress and the cortisol awakening response. **Psychoneuroendocrinology**, v. 48, p. 11-8, Oct 2014. ISSN 1873-3360. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24971591> >.

DEMARZO, M. et al. Efficacy of 8- and 4-Session Mindfulness-Based Interventions in a Non-clinical Population: A Controlled Study. **Front Psychol**, v. 8, p. 1343, 2017. ISSN 1664-1078. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28848465> >.

DEMYTTENAERE, K. et al. Coping and the ineffectiveness of coping influence the outcome of in vitro fertilization through stress responses. **Psychoneuroendocrinology**, v. 17, n. 6, p. 655-65, Nov 1992. ISSN 0306-4530. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1287684> >.

DOMAR, A. D. et al. Impact of group psychological interventions on pregnancy rates in infertile women. **Fertil Steril**, v. 73, n. 4, p. 805-11, Apr 2000. ISSN 0015-0282. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10731544> >.

_____. Impact of a group mind/body intervention on pregnancy rates in IVF patients. **Fertil Steril**, v. 95, n. 7, p. 2269-73, Jun 2011. ISSN 1556-5653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21496800> >.

DOMAR, A. D.; SEIBEL, M. M.; BENSON, H. The mind/body program for infertility: a new behavioral treatment approach for women with infertility. **Fertil Steril**, v. 53, n. 2, p. 246-9, Feb 1990. ISSN 0015-0282. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2078200> >.

FARAMARZI, M. et al. Treatment of depression and anxiety in infertile women: cognitive behavioral therapy versus fluoxetine. **J Affect Disord**, v. 108, n. 1-2, p. 159-64, May 2008. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17936366> >.

FARB, N. A. et al. Minding one's emotions: mindfulness training alters the neural expression of sadness. **Emotion**, v. 10, n. 1, p. 25-33, Feb 2010. ISSN 1931-1516. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20141299> >.

_____. Attending to the present: mindfulness meditation reveals distinct neural modes of self-reference. **Soc Cogn Affect Neurosci**, v. 2, n. 4, p. 313-22, Dec 2007. ISSN 1749-5024. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18985137> >.

FEILI, A. R. et al. The Comparative efficacy of Cognitive – Behavior Therapy and Teasdale Mindfulness-Based Cognitive Therapy of Infertile Depressed Women's Rumination. **yums-armaghan**, v. 17, n. 1, p. 14-21, 2012.

FJORBACK, L. O. et al. Mindfulness-based stress reduction and mindfulness-based cognitive therapy: a systematic review of randomized controlled trials. **Acta Psychiatr Scand**, v. 124, n. 2, p. 102-19, Aug 2011. ISSN 1600-0447. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21534932> >.

FONTENELLE, L. F. et al. Neurotrophic factors in obsessive-compulsive disorder. **Psychiatry Res**, v. 199, n. 3, p. 195-200, Oct 2012. ISSN 1872-7123. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22494702> >.

GALHARDO, A.; CUNHA, M.; PINTO-GOUVEIA, J. Mindfulness-Based Program for Infertility: efficacy study. **Fertil Steril**, v. 100, n. 4, p. 1059-67, Oct 2013. ISSN 1556-5653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23809500> >.

GAMEIRO, S. et al. Why do patients discontinue fertility treatment? A systematic review of reasons and predictors of discontinuation in fertility treatment. **Hum Reprod Update**, v. 18, n. 6, p. 652-69, 2012 Nov-Dec 2012. ISSN 1460-2369. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22869759> >.

GOTLIB, I. H.; JOORMANN, J. Cognition and depression: current status and future directions. **Annu Rev Clin Psychol**, v. 6, p. 285-312, 2010. ISSN 1548-5951. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20192795> >.

GRASSI-OLIVEIRA, R. et al. Low plasma brain-derived neurotrophic factor and childhood physical neglect are associated with verbal memory impairment in major depression--a preliminary report. **Biol Psychiatry**, v. 64, n. 4, p. 281-5, Aug 2008. ISSN 1873-2402. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18406398> >.

HARKEY, M. R. Anatomy and physiology of hair. **Forensic Sci Int**, v. 63, n. 1-3, p. 9-18, Dec 1993. ISSN 0379-0738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8138238> >.

HASIN, D. S. et al. Epidemiology of Adult DSM-5 Major Depressive Disorder and Its Specifiers in the United States. **JAMA Psychiatry**, v. 75, n. 4, p. 336-346, Apr 2018. ISSN 2168-6238. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29450462> >.

HAYES-SKELTON, S.; GRAHAM, J. Decentering as a common link among mindfulness, cognitive reappraisal, and social anxiety. **Behav Cogn Psychother**, v. 41, n. 3, p. 317-28, May 2013. ISSN 1469-1833. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23218023> >.

HENDERSON, V. P. et al. The effects of mindfulness-based stress reduction on psychosocial outcomes and quality of life in early-stage breast cancer patients: a randomized trial. **Breast Cancer Res Treat**, v. 131, n. 1, p. 99-109, Jan 2012. ISSN 1573-7217. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21901389> >.

HERMAN, J. P. et al. Evidence for hippocampal regulation of neuroendocrine neurons of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. **J Neurosci**, v. 9, n. 9, p. 3072-82, Sep 1989. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2795152> >.

HOMANN, D. et al. Stress perception and depressive symptoms: functionality and impact on the quality of life of women with fibromyalgia. **Rev Bras Reumatol**, v. 52, n. 3, p. 319-30, 2012 May-Jun 2012. ISSN 1809-4570. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22641587> >.

HOURVITZ, A. et al. Assisted reproduction in women over 40 years of age: how old is too old? **Reprod Biomed Online**, v. 19, n. 4, p. 599-603, Oct 2009. ISSN 1472-6491. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19909604> >.

HÅKANSSON, K. et al. BDNF Responses in Healthy Older Persons to 35 Minutes of Physical Exercise, Cognitive Training, and Mindfulness: Associations with Working Memory Function. **J Alzheimers Dis**, v. 55, n. 2, p. 645-657, 2017. ISSN 1875-8908. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27716670> >.

HÖLZEL, B. K. et al. How Does Mindfulness Meditation Work? Proposing Mechanisms of Action From a Conceptual and Neural Perspective. **Perspect Psychol Sci**, v. 6, n. 6, p. 537-59, Nov 2011. ISSN 1745-6916. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26168376> >.

JACOBSON, L.; SAPOLSKY, R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. **Endocr Rev**, v. 12, n. 2, p. 118-34, May 1991. ISSN 0163-769X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2070776> >.

KABAT-ZINN, J. An outpatient program in behavioral medicine for chronic pain patients based on the practice of mindfulness meditation: theoretical considerations and preliminary results. **Gen Hosp Psychiatry**, v. 4, n. 1, p. 33-47, Apr 1982. ISSN 0163-8343. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7042457> >.

KARACA, A.; UNSAL, G. Psychosocial Problems and Coping Strategies among Turkish Women with Infertility. **Asian Nurs Res (Korean Soc Nurs Sci)**, v. 9, n. 3, p. 243-50, Sep 2015. ISSN 2093-7482. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26412629> >.

KESSLER, R. C. Epidemiology of women and depression. **J Affect Disord**, v. 74, n. 1, p. 5-13, Mar 2003. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12646294> >.

KOBAYASHI, K. et al. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with panic disorder: as a biological predictor of response to group cognitive behavioral therapy. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 29, n. 5, p. 658-63, Jun 2005. ISSN 0278-5846. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15905010> >.

LEE, D. Y.; KIM, E.; CHOI, M. H. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. **BMB Rep**, v. 48, n. 4, p. 209-16, Apr 2015. ISSN 1976-670X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25560699> >.

LI, J. et al. Effects of a mindfulness-based intervention on fertility quality of life and pregnancy rates among women subjected to first in vitro fertilization treatment. **Behav Res Ther**, v. 77, p. 96-104, Feb 2016. ISSN 1873-622X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26742022> >.

LUDWIG, D. S.; KABAT-ZINN, J. Mindfulness in medicine. **JAMA**, v. 300, n. 11, p. 1350-2, Sep 2008. ISSN 1538-3598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18799450> >.

LUNDGREN-NILSSON, Å. et al. Construct validity of the Psychological General Well Being Index (PGWBI) in a sample of patients undergoing treatment for stress-related exhaustion: a Rasch analysis. **Health Qual Life Outcomes**, v. 11, p. 2, Jan 2013. ISSN 1477-7525. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23295151> >.

LYNCH, C. D. et al. Preconception stress increases the risk of infertility: results from a couple-based prospective cohort study--the LIFE study. **Hum Reprod**, v. 29, n. 5, p. 1067-75, May 2014. ISSN 1460-2350. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24664130> >.

MA, D. Y. et al. The correlation between perceived social support, cortisol and brain derived neurotrophic factor levels in healthy women. **Psychiatry Res**, v. 239, p. 149-53, 05 2016. ISSN 1872-7123. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27137977> >.

MALINOWSKI, P. Neural mechanisms of attentional control in mindfulness meditation. **Front Neurosci**, v. 7, p. 8, 2013. ISSN 1662-4548. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23382709> >.

MAZURE, C. M. et al. Stressful life events interacting with cognitive/personality styles to predict late-onset major depression. **Am J Geriatr Psychiatry**, v. 10, n. 3, p. 297-304, 2002 May-Jun 2002. ISSN 1064-7481. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11994217> >.

MEDICINE, P. C. O. A. S. F. R. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. **Fertil Steril**, v. 99, n. 1, p. 63, Jan 2013. ISSN 1556-5653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23095139> >.

MEYER, J. S.; NOVAK, M. A. Minireview: Hair cortisol: a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity. **Endocrinology**, v. 153, n. 9, p. 4120-7, Sep 2012. ISSN 1945-7170. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22778226> >.

MICHOPOULOS, V. et al. Neuroendocrine recovery initiated by cognitive behavioral therapy in women with functional hypothalamic amenorrhea: a randomized, controlled trial. **Fertil Steril**, v. 99, n. 7, p. 2084-91.e1, Jun 2013. ISSN 1556-5653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23507474> >.

MILLER, J. J.; FLETCHER, K.; KABAT-ZINN, J. Three-year follow-up and clinical implications of a mindfulness meditation-based stress reduction intervention in the treatment of anxiety disorders. **Gen Hosp Psychiatry**, v. 17, n. 3, p. 192-200, May 1995. ISSN 0163-8343. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7649463> >.

NEWTON, C. R.; SHERRARD, W.; GLAVAC, I. The Fertility Problem Inventory: measuring perceived infertility-related stress. **Fertil Steril**, v. 72, n. 1, p. 54-62, Jul 1999. ISSN 0015-0282. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10428148> >.

NIBUYA, M.; MORINOBU, S.; DUMAN, R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. **J Neurosci**, v. 15, n. 11, p. 7539-47, Nov 1995. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7472505> >.

NOVAES LIPP, M. **Manual do Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL)**. São Paulo, Brazil: Casapsi Livraria e Editora Ltda., 2005. ISBN 978-85-7396-083-9.

NYKLÍČEK, I.; KUIJPERS, K. F. Effects of mindfulness-based stress reduction intervention on psychological well-being and quality of life: is increased mindfulness indeed the mechanism? **Ann Behav Med**, v. 35, n. 3, p. 331-40, Jun 2008. ISSN 1532-4796. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18535870> >.

PAIVA, S. et al. impact of a short-term, mindfulness-based stress reduction program on the well-being of infertile women: a mixed-method study. **Journal of Endometriosis and Pelvic Pain Disorders**, 2015.

PASCOE, M. C.; THOMPSON, D. R.; SKI, C. F. Yoga, mindfulness-based stress reduction and stress-related physiological measures: A meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 86, p. 152-168, Dec 2017. ISSN 1873-3360. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28963884> >.

PAUL, N. A. et al. Psychological and neural mechanisms of trait mindfulness in reducing depression vulnerability. **Soc Cogn Affect Neurosci**, v. 8, n. 1, p. 56-64, Jan 2013. ISSN 1749-5024. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22717383> >.

PETRAGLIA, F.; SEROUR, G. I.; CHAPRON, C. The changing prevalence of infertility. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 123 Suppl 2, p. S4-8, Dec 2013. ISSN 1879-3479. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24112745> >.

PIACENTINI, M. F. et al. Effect of Intensive Training on Mood With No Effect on Brain-Derived Neurotrophic Factor. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 11, n. 6, p. 824-830, Sep 2016. ISSN 1555-0273. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26658294> >.

PICCINNI, A. et al. Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. **J Affect Disord**, v. 105, n. 1-3, p. 279-83, Jan 2008. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17553570> >.

RAES, F. et al. Mindfulness and reduced cognitive reactivity to sad mood: evidence from a correlational study and a non-randomized waiting list controlled study. **Behav Res Ther**, v. 47, n. 7, p. 623-7, Jul 2009. ISSN 1873-622X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19362705> >.

ROCHA, A. L. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor in women with pelvic pain: a potential biomarker for endometriosis? **Biomark Med**, v. 11, n. 4, p. 313-317, Apr 2017. ISSN 1752-0371. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28290209> >.

RUSSELL, E. et al. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. **Psychoneuroendocrinology**, v. 37, n. 5, p. 589-601, May 2012. ISSN 1873-3360. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21974976> >.

SANADA, K. et al. The Efficacy of Non-Pharmacological Interventions on Brain-Derived Neurotrophic Factor in Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Int J Mol Sci**, v. 17, n. 10, Oct 2016. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27783051> >.

SAUNDERS, P. A. et al. Promoting self-awareness and reflection through an experiential mind-body skills course for first year medical students. **Med Teach**, v. 29, n. 8, p. 778-84, Oct 2007. ISSN 1466-187X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17852720> >.

SCHER, C. D.; INGRAM, R. E.; SEGAL, Z. V. Cognitive reactivity and vulnerability: empirical evaluation of construct activation and cognitive diatheses in unipolar depression. **Clin Psychol Rev**, v. 25, n. 4, p. 487-510, Jun 2005. ISSN 0272-7358. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15914266> >.

SEIBEL, M. M.; TAYMOR, M. L. Emotional aspects of infertility. **Fertil Steril**, v. 37, n. 2, p. 137-45, Feb 1982. ISSN 0015-0282. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7037462> >.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, v. 10, n. 2, p. 230-1, 1998. ISSN 0895-0172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9722327> >.

SERWINSKI, B. et al. Associations between hair cortisol concentration, income, income dynamics and status incongruity in healthy middle-aged women. **Psychoneuroendocrinology**, v. 67, p. 182-8, May 2016. ISSN 1873-3360. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26923848> >.

SHAHRESTANI, M. et al. The Effectiveness of Mindfulness Based Cognitive Group Therapy (MBCT) on Improving Perceived Infertility-Related Stress and Irrational Parenthood Cognitions among Infertile Women Undergoing IVF Treatment. **The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility**, v. 15, n. 19, p. 28-38, 2012.

SMITH, R. et al. The role of medial prefrontal cortex in the working memory maintenance of one's own emotional responses. **Sci Rep**, v. 8, n. 1, p. 3460, Feb 2018. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29472625> >.

STALDER, T. et al. Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 77, p. 261-274, Mar 2017. ISSN 1873-3360. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28135674> >.

STEFANAKI, C. et al. Impact of a mindfulness stress management program on stress, anxiety, depression and quality of life in women with polycystic ovary syndrome: a randomized controlled trial. **Stress**, v. 18, n. 1, p. 57-66, Jan 2015. ISSN 1607-8888. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25287137> >.

TAVARES, R. et al. Socioeconomic profile of couples seeking the public healthcare system (SUS) for infertility treatment. **JBRA Assist Reprod**, v. 20, n. 3, p. 112-7, 08 2016. ISSN 1518-0557. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27584602> >.

THIERING, P. et al. Mood state as a predictor of treatment outcome after in vitro fertilization/embryo transfer technology (IVF/ET). **J Psychosom Res**, v. 37, n. 5, p. 481-91, Jul 1993. ISSN 0022-3999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8350290> >.

THOMA, M. E. et al. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. **Fertil Steril**, v. 99, n. 5, p. 1324-1331.e1, Apr 2013. ISSN 1556-5653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23290741> >.

TURAKITWANAKAN, W.; MEKSEEPRALARD, C.; BUSARAKUMTRAGUL, P. The Pilot Study of the Effect of Meditation to the Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) of Medical Students, Srinakharinvirot University. **J Med Assoc Thai**, v. 98 Suppl 10, p. S107-11, Nov 2015. ISSN 0125-2208. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27276841> >.

VELDHORST, M. A. et al. Increased scalp hair cortisol concentrations in obese children. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 1, p. 285-90, Jan 2014. ISSN 1945-7197. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24384019> >.

VERKUIJLEN, J. et al. Psychological and educational interventions for subfertile men and women. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 3, p. CD011034, Mar 2016. ISSN 1469-493X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27031818> >.

VIOLA, T. W. et al. Neurotrophic factors in women with crack cocaine dependence during early abstinence: the role of early life stress. **J Psychiatry Neurosci**, v. 39, n. 3, p. 206-14, May 2014. ISSN 1488-2434. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24331739> >.

WHO. Depression. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>, 2018.

WILSON, J. F.; KOPITZKE, E. J. Stress and infertility. **Curr Womens Health Rep**, v. 2, n. 3, p. 194-9, Jun 2002. ISSN 1534-5874. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12099195> >.

YAMADA, H. et al. Recovery of low plasma BDNF over the course of treatment among patients with bulimia nervosa. **Psychiatry Res**, v. 198, n. 3, p. 448-51, Aug 2012. ISSN 1872-7123. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22425474> >.

YOUNG, E. A. et al. Loss of glucocorticoid fast feedback in depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 48, n. 8, p. 693-9, Aug 1991. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1652926> >.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F. et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. **Hum Reprod**, v. 32, n. 9, p. 1786-1801, Sep 2017. ISSN 1460-2350. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29117321> >.

ZHANG, X. Y. et al. Cognitive and serum BDNF correlates of BDNF Val66Met gene polymorphism in patients with schizophrenia and normal controls. **Hum Genet**, v. 131, n. 7, p. 1187-95, Jul 2012. ISSN 1432-1203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22362486> >.

ZHOU, C. et al. Meta-analyses of comparative efficacy of antidepressant medications on peripheral BDNF concentration in patients with depression. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0172270, 2017. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28241064> >.