

PAULA GABRIELLA PEDRAS SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DO FUCOIDAN E OUABAÍNA: EFEITOS NA MOTILIDADE E
VITALIDADE ESPERMÁTICA HUMANA *IN VITRO***

VITÓRIA
2025

PAULA GABRIELLA PEDRAS SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DO FUCOIDAN E OUABAÍNA: EFEITOS NA MOTILIDADE E
VITALIDADE ESPERMÁTICA HUMANA *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Débora Dummer Meira

Coorientador: Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

P371b Pedras Silva, Paula Gabriella, 1999-
BIOPROSPECÇÃO DO FUCOIDAN E OUABAÍNA:
EFEITOS NA MOTILIDADE E VITALIDADE
ESPERMÁTICA HUMANA IN VITRO / Paula Gabriella Pedras
Silva. - 2025.
85 p.

Orientadora: Debora Dummer Meira.
Coorientador: Breno Valentim Nogueira.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Ouabaína. 2. Glicoconjugados. 3. Motilidade espermática.
4. Métodos Contraceptivos. I. Dummer Meira, Debora. II.
Nogueira, Breno Valentim. III. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

PAULA GABRIELLA PEDRAS SILVA

BIOPROSPECÇÃO DO FUCOIDAN E OUABAÍNA: EFEITOS NA MOTILIDADE E VITALIDADE ESPERMÁTICA HUMANA *IN VITRO*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Apresentada em 18 de março de 2025.

Documento assinado digitalmente
gov.br DEBORA DUMMER MEIRA
Data: 18/03/2025 11:32:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Débora Dummer Meira
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Rubrica
BDM

Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
FLAVIA DE PAULA - SIAPE 2441743
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN
Em 18/03/2025 às 14:17

Prof^a. Dr^a. Flavia de Paula
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro interno

Rubrica
FLAVIA

Prof. Dr. Carlos Magno da Costa Maranduba
Universidade Federal de Juiz de Fora
Membro Externo

VITÓRIA, ES

2025

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho inédito na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), um tema pioneiro na área da Pós-graduação em Biotecnologia na Saúde (UFES).

Primeiramente, agradeço à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Débora Dummer Meira, por todo o esforço, carinho, paciência e pelas considerações durante toda a jornada. Seu apoio incondicional, especialmente nos momentos em que pensei em desistir da temática, foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Agradeço também ao meu coorientador, Prof. Dr. Breno Valentim Nogueira, pela confiança em me desafiar a escolher o tema do meu mestrado, este foi o impulso inicial para o desenvolvimento deste projeto. Ademais, pelo generoso investimento na compra dos bioativos e dos materiais necessários para a pesquisa.

Expresso minha imensa gratidão ao meu namorado e companheiro, Gabriel de Oliveira Santos, pelo apoio incondicional durante todo o percurso, pelo carinho e motivação constante, por participar de todo processo de maneira gentil e atenciosa. Acima de tudo, sou grata por me incentivar a nunca desistir daquilo em que acredito.

À minha amiga e irmã, Milena de Oliveira Corrêa, agradeço pelos sete anos compartilhando a morada comigo, por ser minha parceira de vida, pela paciência incondicional, pelo amor em todas as palavras, pelo companheirismo em todo esse tempo e, principalmente, por não me deixar desistir dos meus projetos e embarcar comigo na jornada, desde as iniciações científicas durante a graduação até hoje, mesmo que em programas de pós-graduação diferentes.

Ao meu pai, Edilberto Francisco Pedras Silva, expresso minha eterna gratidão por sempre me motivar a estudar e a seguir na carreira acadêmica, mesmo ciente das dificuldades. Agradeço também pelo suporte contínuo e inabalável ao longo da minha jornada.

Aos voluntários que gentilmente dedicaram seu tempo para doar suas amostras, contribuindo de maneira inestimável para a realização deste projeto, expresso minha

mais profunda gratidão. Sua generosidade e disposição foram fundamentais para o sucesso desta pesquisa.

Ao Flávio, Tadeu, Hellyezer, Sueli, Alessandra, Luís Miguel, Ezio e a todos do Núcleo de Bioengenharia Tecidual, expressei minha mais sincera gratidão por suas contribuições para a realização deste trabalho. Cada um de vocês, de alguma forma, desempenhou um papel essencial no sucesso deste projeto.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) pelo suporte e infraestrutura fornecidos ao longo deste estudo. Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento e apoio essencial para a realização desta pesquisa. A colaboração e os recursos disponibilizados por essas instituições foram fundamentais para o desenvolvimento e sucesso deste trabalho acadêmico.

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez.”

- George Bernard Shaw

RESUMO

SILVA, P.G.P. **BIOPROSPECÇÃO DO FUCOIDAN E OUABAÍNA: EFEITOS NA MOTILIDADE E VITALIDADE ESPERMÁTICA HUMANA *IN VITRO***. 2025. 111f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

Os contraceptivos hormonais orais (CO) são amplamente utilizados no planejamento familiar, mas apresentam riscos significativos à saúde feminina. Embora eficazes, podem causar efeitos adversos graves, como alterações cardiovasculares, que aumentam o risco de embolismo pulmonar, trombose venosa e arterial, e doenças metabólicas, como diabetes e dislipidemias. As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte no Brasil e no mundo, e os métodos contraceptivos hormonais estão associados ao aumento do risco de acidentes vasculares encefálicos e outras DCV. Os espermicidas de base vegetal são alternativas aos espermicidas químicos, como o Nonoxinol-9 (N-9), que pode causar danos à mucosa vaginal e aumentar o risco de infecções. Alternativas ao N-9, como o Lauril Sulfato de Sódio (SLS), também apresentam efeitos adversos, incluindo irritação da pele e mucosas. O fucoidan, um polissacarídeo sulfatado encontrado em algas marinhas marrons, possui atividades biológicas benéficas e é investigado como carreador de fármacos devido à sua baixa toxicidade. A ouabaína, extraída da planta *Strophantus gratus*, atua na capacitação espermática e inibe a $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$, desempenhando um papel significativo em diversos processos fisiológicos e patológicos. O objetivo deste estudo foi analisar a atividade espermicida do fucoidan, extraído da alga *Fucus vesiculosus*, e da ouabaína, em espermatozóides humanos *in vitro*. A metodologia envolveu a coleta de amostras seminais de voluntários de 18 a 45 anos, após aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa sob registro Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) 79783124.5.0000.5060 que foram submetidas a tratamentos com controle negativo, controle positivo (SLS), com o agente fucoidan, ouabaína e uma combinação de ambos. A motilidade e vitalidade dos espermatozóides foram avaliadas em dois tempos distintos (0 e 15 minutos) utilizando técnicas de análise seminal padronizadas pela Organização Mundial de Saúde. Os tratamentos aplicados reduziram significativamente a motilidade e vitalidade dos espermatozóides em comparação com o controle positivo (SLS). A combinação de fucoidan e ouabaína apresentou a maior redução da motilidade espermática, com uma diminuição de

aproximadamente 28,3% na motilidade progressiva e 28,1% na vitalidade, sugerindo um efeito sinérgico entre os compostos. A análise estatística, utilizando os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Wilcoxon, confirmou a significância dessas reduções nos tempos T0 e T15. Além disso, a interação dos compostos com as espécies reativas de oxigênio (EROs) sugere um mecanismo de ação que compromete a integridade celular e a função espermática. Esses achados destacam o potencial do fucoïdan e da ouabaína como agentes espermicidas eficazes, contribuindo para o desenvolvimento de métodos contraceptivos mais seguros e eficientes. No entanto, é necessário considerar os custos associados a cada tratamento e realizar mais pesquisas para confirmar essas hipóteses e explorar suas aplicações biotecnológicas futuras.

Palavras- chave: Ouabaína; Glicoconjugados; Motilidade espermática; Métodos Contraceptivos.

ABSTRACT

SILVA, P.G.P. **BIOPROSPECTION OF FUCOIDAN AND OUABAIN: EFFECTS ON HUMAN SPERM MOTILITY AND VITALITY IN VITRO.** 2025. 111f. Dissertation (Master's in Biotechnology) – Postgraduate Program in Biotechnology, UFES, Espírito Santo. Brazil.

Oral hormonal contraceptives (OC) are widely used in family planning but pose significant health risks to women. Although effective, they can cause severe adverse effects, such as cardiovascular alterations that increase the risk of pulmonary embolism, venous and arterial thrombosis, and metabolic diseases such as diabetes and dyslipidemia. Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of death in Brazil and globally, and hormonal contraceptive methods are associated with an increased risk of cerebrovascular accidents and other CVDs. Plant-based spermicides are alternatives to chemical spermicides like Nonoxynol-9 (N-9), which can cause vaginal mucosa damage and increase the risk of infections. Alternatives to N-9, such as Sodium Lauryl Sulfate (SLS), also present adverse effects, including skin and mucosal irritation. Fucoidan, a sulfated polysaccharide found in brown seaweeds, has beneficial biological activities and is investigated as a drug carrier due to its low toxicity. Ouabain, extracted from the plant *Strophanthus gratus*, acts on sperm capacitation and inhibits $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$, playing a significant role in various physiological and pathological processes. This study aimed to analyze the spermicidal activity of fucoidan, extracted from the seaweed *Fucus vesiculosus*, and ouabain on human sperm in vitro. The methodology involved collecting semen samples from volunteers aged 18 to 45 years, after approval from the Ethics and Research Committee under the Ethical Appreciation Presentation Certificate (CAAE) 79783124.5.0000.5060, which were subjected to treatments with negative control, positive control (SLS), fucoidan, ouabain, and a combination of both. Sperm motility and vitality were assessed at two different time points (0 and 15 minutes) using seminal analysis techniques standardized by the World Health Organization. The treatments significantly reduced sperm motility and vitality compared to the positive control (SLS). The combination of fucoidan and ouabain showed the greatest reduction in sperm motility, with approximately a 28.3% decrease in progressive motility and a 28.1% decrease in vitality, suggesting a synergistic effect between the compounds. Statistical analysis using non-parametric tests of Kruskal-Wallis and Wilcoxon post hoc confirmed the significance of these reductions at times T0 and T15. Moreover, the interaction of the compounds with reactive oxygen species (ROS)

suggests a mechanism of action that compromises cellular integrity and sperm function. These findings highlight the potential of fucoidan and ouabain as effective spermicidal agents, contributing to the development of safer and more efficient contraceptive methods. However, it is necessary to consider the costs associated with each treatment and conduct further research to confirm these hypotheses and explore their future biotechnological applications.

Keywords: Ouabain; Glycoconjugates; Sperm Motility; Contraceptive Methods.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração dos aspectos estruturais do espermatozóide humano. Fonte: Centro Integrado de Aprendizagem em Rede (CIAR), Universidade Federal de

Goiás (2025).....	22
Figura 2: Demonstração dos tipos de motilidade espermática. Fonte: Lopez et al., 2023).....	25
Figura 3: Mecanismo de ação da Na, K-ATPase $\alpha 4$ nos espermatozoides. Fonte: Lastra-Vargas LM et al. 2021 (adaptado).....	30
Figura 3. Boxplot da motilidade no tempo T0.....	38
Figura 4. Boxplot da motilidade no tempo T15.....	39
Figura 5. Boxplot da vitalidade no tempo T0.....	40
Figura 6. Boxplot da vitalidade no tempo T15.....	41
Figura 7: Redução da motilidade espermática progressiva com os tratamentos aplicados e de acordo com o tempo de incubação.....	42
Figura 8: Redução da vitalidade espermática com os tratamentos aplicados e de acordo com o tempo de incubação.....	42
Figura 10. Representação esquemática da cascata de reações que levam à inibição da NKA $\alpha 4$ pela ouabaína, os principais sistemas de transporte iônico na fisiologia espermática e a relação da NKA $\alpha 4$, e um modelo hipotético apresentando as vias de sinalização mediadas por ATP1A4 em microdomínios específicos da membrana do espermatozoide bovino durante a capacitação. (adaptado)...	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição da motilidade progressiva e vitalidade para diferentes tempos e tratamentos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1. Espermicida Químico: o uso do Nonoxinol-9 (N-9) e Sulfato Lauril de Sódio	

(SLS).....	19
1.2. Espermicidas de base vegetal.....	20
1.3. Estrutura do espermatozóide.....	21
1.4. Plasma Seminal.....	23
1.7. O fucoidan e a interação espermatozóide-óvulo.....	26
1.8. Ouabaína: Interações e efeitos na fertilidade masculina.....	28
2. OBJETIVO.....	32
2.1. OBJETIVO GERAL.....	32
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
3. METODOLOGIA.....	33
3.1. Metodologia da análise seminal.....	33
3.1.1. Delineamento Experimental.....	33
3.1.3. Coleta Seminal e Avaliação Espermática.....	34
3.2. Análise Seminal.....	34
3.4. Distribuição nos tratamentos.....	35
3.5. Análise estatística.....	36
4. RESULTADOS.....	36
4.1. Resultados dos ensaios de motilidade e vitalidade espermática.....	36
4.2. Motilidade.....	38
4.3. Vitalidade.....	39
5. DISCUSSÃO.....	43
5.1. Motilidade.....	47
5.2. Vitalidade.....	47
5.3. As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e a interação com os compostos estudados.....	48
6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
REFERÊNCIAS.....	54
ANEXO I.....	71
Revisão de Escopo: Desvantagens dos Métodos Contraceptivos Hormonais em Mulheres em Idade Reprodutiva.....	71



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

1. INTRODUÇÃO

Os Direitos Humanos, um conjunto de direitos sociais que surgiu como uma resposta à Segunda Guerra Mundial, incluem como fundamentais o direito à vida, à alimentação, à moradia, à educação, os direitos sexuais e os direitos reprodutivos (Villela; Arilha, 2003). Previsto na Constituição de 1988, compete ao Estado propiciar recursos educacionais e científicos para o exercício do planejamento familiar (Brasil, 1988), conforme regulamentado pela Lei nº 9.263/1996, que regulamenta o planejamento familiar como conjunto de ações de regulação da fecundidade, que garanta igualdade nos direitos constitutivos e que devem ser oferecidos todos os métodos e técnicas de concepção e contracepção cientificamente aceitos e que não coloquem em risco a saúde e a vida das pessoas (Brasil, 1996).

O Caderno da Atenção Básica nº 26, do Ministério da Saúde, dispõe que o direito reprodutivo traduz o direito de as pessoas decidirem de forma livre e responsável, se querem ou não ter filhos, a quantidade e em que momento da vida. Menciona ainda sobre o direito de acesso a informações, meios, métodos e técnicas para concepção ou contracepção, entre outros (Brasil, 2013).

A Organização das Nações Unidas (ONU), em setembro de 2015, estabeleceu o compromisso com uma nova Agenda Global de Desenvolvimento Sustentável, representada em 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e com validade entre 2015 e 2030. Nesse contexto, dois desses objetivos têm relação direta com a saúde sexual e saúde reprodutiva: Saúde de qualidade e Igualdade de gênero (ONU, 2015).

Durante as últimas décadas, o Brasil e outros países da América Latina experimentaram uma redução significativa na taxa de fecundidade. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a taxa de fecundidade, que era de 6,3 filhos por mulher em 1960, caiu para 1,7 filho por mulher em 2015 (IBGE, 2015).

Apesar dessa redução, de acordo com uma pesquisa da Bayer em parceria com a Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (Febrasgo) e realizada pela Inteligência em Pesquisa e Consultoria (IPEC), cerca de 62% das mulheres já tiveram pelo menos uma gravidez não planejada, mais da metade das gestações que ocorrem no Brasil. Essa pesquisa contou com a participação de mil mulheres e evidenciou que 23% usam contraceptivo sem prescrição médica, além

de 34% não fazerem uso de método, 27% falha no método utilizado e 20% o uso de maneira errada como problemas (Bayer, 2016).

Segundo o estudo realizado pela Pesquisa Nacional do Aborto em 2016, entre o total de 2.002 mulheres entrevistadas, 79% (n= 1.582) declarou usar algum método contraceptivo na ocasião da concepção. Entre os métodos anticoncepcionais mais utilizados pelas mulheres entrevistadas, estão: pílula anticoncepcional (38%), preservativo masculino (32%) e laqueadura (7%). Cerca de 25% (n= 500) mulheres realizaram o aborto, e, 55% (n= 275) dessas mulheres declararam ter utilizado algum método contraceptivo no momento da concepção.

Os contraceptivos hormonais são os métodos reversíveis mais utilizados pela população brasileira para planejamento familiar (Pompermaier *et al.*, 2021), estes, utilizam hormônios sintéticos para impedir a ovulação e/ou alterar o muco cervical, dificultando a passagem dos espermatozóides. Eles podem ser administrados por diferentes vias, como oral, injetável, transdérmica, vaginal ou intrauterina.

Os contraceptivos hormonais orais (CO) são métodos de planejamento familiar que utilizam hormônios sintéticos para impedir a ovulação e alterar o muco cervical, dificultando a passagem dos espermatozóides. A pílula de progestogênio contém apenas o hormônio em sua composição, que tem a função de espessamento do muco cervical e deve ser tomada diariamente, sem pausa. A pílula combinada contém estrogênio e progestagênio, que inibem a liberação do hormônio folículo-estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH), impedindo a ovulação. Deve ser tomada diariamente, preferencialmente no mesmo horário, por 21 ou 24 dias, seguidos de uma pausa de 4 ou 7 dias (Sousa *et al.*, 2021). Apesar de serem eficazes e trazerem benefícios para a saúde da mulher, como a redução do risco de câncer de ovário e endométrio, eles podem causar efeitos adversos comuns como sangramento irregular, cefaleia, náusea, mastalgia, alterações de humor, aumento da oleosidade da pele, aumento da acne (Shukla, Jamwal, Bala, 2016).

De acordo com Sousa *et al.* (2021), entre os efeitos adversos mais graves estão as alterações cardiovasculares, como trombose e hipertensão, que podem provocar ao quadro de tromboembolismo principalmente quando utilizado CO que possuem em sua composição o etinilestradiol, que promove o aumento de trombina e desenvolve coágulos na parede dos vasos, podendo levar ao desenvolvimento de embolismo pulmonar. Ademais, as doenças metabólicas, como diabetes e

dislipidemias foram citadas por Carrias et al., e essa alteração é provocada pelo consumo da progestina (Ferreira *et al.*, 2019).

É importante mencionar que as doenças cardiovasculares (DCV) correspondem à principal causa de morte no Brasil e no mundo, conforme publicado pelo Global Burden of Disease (GBD), realizado em 2019 (GBD, 2019). Os métodos contraceptivos hormonais possuem uma associação com o aumento de risco para trombose venosa e arterial, acidente vascular encefálico, entre outras DCV (Simão *et al.*, 2008).

Os métodos não hormonais incluem o DIU de cobre, métodos de barreira com e sem espermicidas e métodos comportamentais (Britton *et al.*, 2020). É inegável que apresentam menos riscos e efeitos colaterais, tendo em vista que não envolvem a exposição a hormônios exógenos ou sintéticos. De forma geral, o DIU de cobre pode ser usado por até 10 anos, mas há associação do método com cólicas e, mais frequentemente, sangramento menstrual intenso (Olshansk *et al.*, 2018). Esse método é contraindicado para mulheres com alergia ao cobre, infecções uterinas ou câncer uterino.

Dentre os métodos comportamentais conhecidos, estão: o coito interrompido, a amenorreia lactacional (LAM) e os métodos baseados na conscientização da fertilidade (FABMs). O LAM se baseia na supressão natural do pico de hormônio luteinizante (LH), e é mais utilizado durante a amamentação exclusiva (Olshansk *et al.*, 2018). Os FABMs, também conhecido como “tabelinha”, podem envolver o rastreamento do ciclo menstrual, temperatura corporal basal, muco cervical ou dos níveis de LH para calcular o provável período fértil. A taxa de falha pode ser de 15% com uso típico e de 0,4 a 5% com uso perfeito (Hatcher *et al.*, 2018).

Os métodos de barreira incluem os preservativos e diafragmas usados no momento da relação sexual e sua eficácia está intimamente ligada ao comportamento do usuário e sua utilização da forma correta, além disso, é o único método que previne a transmissão de Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs) (Brasil, 2013). O preservativo masculino apresenta falhas de 13% e 2%, para uso típico e perfeito, respectivamente; para o preservativo feminino, 21% e 5%, respectivamente; e para o diafragma 17% e 16% respectivamente (Hatcher, 2018).

Os diafragmas são inseridos no canal vaginal de forma a bloquear o colo do útero, e pode ser colocado até uma hora antes da relação sexual. Estes, por sua vez, são utilizados com um espermicida, que normalmente possuem em sua

formulação um composto chamado nonoxinol-9 (nonilfenol etoxietanol [N-9]) (Curtis *et al.*, 2016). Este composto pode causar irritação e/ou reações alérgicas que levam a microfissuras e lesões genitais, aumento do risco de infecções do trato urinário e aumento da suscetibilidade às ISTs (Britto *et al.*, 2020).

1.1. Espermicida Químico: o uso do Nonoxinol-9 (N-9) e Sulfato Lauril de Sódio (SLS)

O Nonoxinol-9 (N-9) é um agente capaz de promover a lise da membrana espermática através da interação com a camada fosfolipídica (Murong *et al.*, 2022). Trata-se de um surfactante não iônico como agente ativo e é comumente utilizado em concentrações entre 2% e 12% como componente em espermicidas (Hillier *et al.*, 2005). O N-9 e compostos relacionados são ingredientes de vários produtos de limpeza e cosméticos. Ele também é o ingrediente ativo da maioria dos cremes, gelatinas, espumas, géis, filmes e supositórios espermicidas (TUPAM EDITORES SA, 2025).

Nesse contexto, vários estudos sugerem que o N-9 pode causar danos à mucosa vaginal, aumentando o risco de infecção ao facilitar a entrada de agentes infecciosos. Hillier e colaboradores (2005) contribuíram em seu estudo que o N-9 pode causar a liberação de citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas (IL):1a, 1b e IL-8, evidenciando a capacidade do N-9 de exercer influência sobre processos inflamatórios. Ademais, a maioria dos estudos evidenciam a toxicidade do N-9, favorável à ruptura epitelial e ao infiltrado inflamatório nos tecidos e nas secreções cérvico-vaginais.

O uso de N-9 pode alterar a flora microbiana vaginal, aumentando a colonização por *Escherichia coli* devido à destruição seletiva de *Lactobacillus acidophilus*, que normalmente ajuda a controlar o crescimento de *E. coli* (Klebanoff, 1992). O N-9 apresenta maior toxicidade para células vaginais em comparação com outros compostos, como o cloreto de benzalcônio (BKC) e o cloreto de miristalcônio (MKC). Estes compostos exibem atividade espermicida em doses mais baixas, porém, também apresentaram toxicidade para as células HeLa em todas as concentrações testadas (Alfaiate *et. al*, 2021).

Diante o exposto, é evidente que o N-9 pode causar irritação vaginal significativa, aumentando o risco de infecções ascendentes e falhas contraceptivas. Estudos indicam que a exposição ao N-9 pode facilitar infecções intrauterinas e

elevar a taxa de partos prematuros devido a danos no epitélio cervical (Pavlidis et. al, 2020)

Há um interesse crescente no desenvolvimento de espermicidas que equilibrem eficácia e segurança, minimizando a irritação vaginal. Compostos como o ácido mandélico e peptídeos antimicrobianos, como LL-37, estão sendo investigados por suas propriedades espermicidas e menor toxicidade (Xia et. al, 2020; Lee et. al, 2023).

Já o Lauril Sulfato de Sódio (SLS) é um surfactante aniônico com propriedades detergentes, emulsificantes e solubilizantes. Ele é amplamente utilizado em produtos de limpeza e cosméticos (Baker, Grant, 2018) e, conforme elucidado por Haineault e colaboradores (2003), demonstrou potencial contraceptivo ao inibir a motilidade dos espermatozóides humanos e a atividade da hialuronidase testicular de carneiro de maneira dependente da concentração

A concentração mínima eficaz (MEC) para inibir 50% da motilidade dos espermatozóides humanos foi de 279,2 µg/ml. Em coelhos, a aplicação intravaginal de gel com 2% de SLS impediu a fertilização dos óvulos, mas causou irritação leve a moderada na pele e nos olhos. Em mulheres, a aplicação intravaginal de gel com 2% de SLS duas vezes ao dia por 14 dias foi bem tolerada, porém, foram observados sinais de irritação leve em mucosa (Haineault et al., 2003).

Vários efeitos adversos ao uso do SLS já foram documentados na literatura, incluindo irritação da pele, irritação ocular, descamação e inflamação da mucosa oral, úlceras na cavidade oral, reações inflamatórias na língua e sensação de queimação na mucosa oral (Kasi, Özcan, Feilzer, 2022).

A pesquisa contínua é essencial para desenvolver agentes que ofereçam proteção eficaz contra a gravidez, sem os efeitos colaterais associados ao Nonoxinol-9 (N-9). Além disso, é fundamental promover a igualdade na contracepção, com métodos que possam ser utilizados de forma tópica e unissex, contribuindo para uma melhor saúde reprodutiva.

1.2. Espermicidas de base vegetal

Por outro lado, os espermicidas de base vegetal são substâncias que têm a capacidade de matar ou imobilizar os espermatozóides, impedindo a fecundação do óvulo. Eles podem ser usados como um método anticoncepcional alternativo aos espermicidas químicos, que contém o N-9 na formulação (Gallego et al., 2012).

Ademais, podem ter propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas, que podem beneficiar a saúde da mulher. Podem ser encontrados em diferentes formas, como cremes, géis, espumas ou filmes, que devem ser aplicados no fundo da vagina antes de cada relação sexual (FEBRASGO, 2015). Eles podem ser usados em conjunto com outros métodos de barreira, como a camisinha masculina ou feminina ou o diafragma, para aumentar a eficácia anticoncepcional (Brasil, 2013).

Em seu estudo sobre novas alternativas contraceptivas, Gómez et al. (2007) identificaram uma grande variedade de plantas com potencial espermicida, que poderiam ser usadas para desenvolver um anticoncepcional de origem vegetal. Entre os óleos essenciais analisados utilizando células espermáticas humanas, duas se destacaram pelo seu potencial espermicida: *Eugenia brejoensis*, cujo óleo essencial apresentou uma ação espermiostática significativa, com IC50 de 28,99 µg/mL em 5 minutos, 35,19 µg/mL em 15 minutos e 14,79 µg/mL em 30 minutos e *Myroxylon peruiferum*, cujo óleo essencial mostrou um potencial imobilizante significativo, com IC50 de 42,92 µg/mL em 5 minutos, 46,32 µg/mL em 15 minutos e 41,69 µg/mL em 30 minutos (Gomez et. al, 2007).

É notório que os produtos naturais possuem alta diversidade química, relacionada com a disponibilidade de precursores e reações biossintéticas (Filho, 2014). Existem poucos estudos que avaliam a eficácia, a segurança e os efeitos adversos dos espermicidas de base vegetal.

1.3. Estrutura do espermatozóide

A estrutura e a função do espermatozóide humano estão intrinsecamente ligadas à sua capacidade de fertilizar um óvulo, sendo sua morfologia composta por cabeça e cauda, envoltas por uma única membrana plasmática que abriga receptores essenciais para a ligação com a zona pelúcida (Flesch FM, Barend MG, 2000). Essa organização estrutural reflete adaptações específicas que são cruciais para o sucesso do processo de fecundação.

A cabeça do espermatozóide apresenta como principal característica o núcleo achatado e oval, contendo cromatina altamente compactada. Essa compactação é promovida pelas protaminas, proteínas básicas que revestem o DNA genômico. Na região anterior da cabeça encontra-se o acrossoma, uma vesícula rica em enzimas hidrolíticas, como a hialuronidase e a acrosina, que são essenciais para a

penetração na zona pelúcida do oócito (Guzick DS, et al., 2001). Essa composição funcional da cabeça está diretamente associada à capacidade do gameta de contribuir com material genético durante a fertilização.

A cauda do espermatozóide, por sua vez, é composta por colo, peça intermediária, peça principal e peça terminal, conforme demonstrado na Figura 1, todas desempenhando papéis fundamentais na motilidade espermática.

O acrossomo está situado nos dois terços anteriores da cabeça do espermatozóide e abriga enzimas e a liberação dessas enzimas, denominada reação acrossômica, ocorre quando o espermatozóide se aproxima do óvulo (Cafe, S; Anderson, A; Nixon, B, 2020). Esse evento é essencial para a fertilização humana, pois as enzimas promovem a lise das camadas externas do oócito (*cumulus oophorus* e zona pelúcida), permitindo a penetração do espermatozóide no óvulo.

A peça intermediária contém um arranjo central conhecido como axonema, formado por dois microtúbulos centrais simples e nove pares periféricos. Esses microtúbulos estão associados à proteína dineína, que transforma energia química em mecânica, gerando o movimento flagelar. Externamente ao axonema, mitocôndrias dispostas em forma de hélice fornecem a energia necessária para a locomoção eficiente do espermatozóide (Cánovas S, Pilar C., 2008).

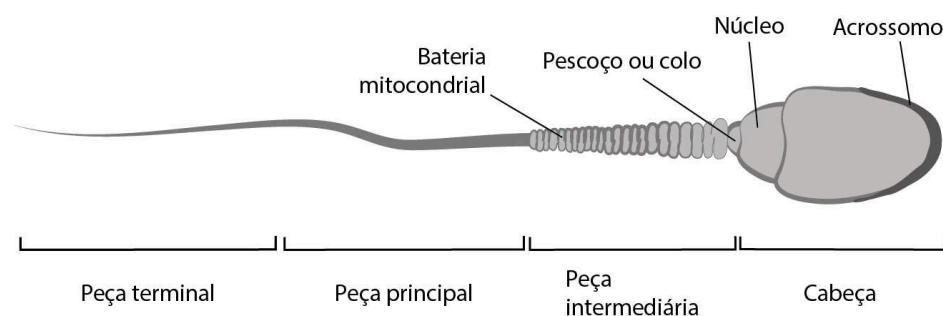


Figura 1. Ilustração dos aspectos estruturais do espermatozóide humano. Fonte: Centro Integrado de Aprendizagem em Rede (CIAR), Universidade Federal de Goiás (2025).

Adicionalmente, elementos celulares como canais iônicos e mitocôndrias desempenham funções indispensáveis no processo de fertilização. As condutâncias de cálcio e potássio reguladas por canais iônicos no espermatozóide são essenciais para a

capacitação e o potencial de fertilização; defeitos nesses canais podem comprometer significativamente a fertilidade (Brown, S., Publicover, S., Barratt, C., & Da Silva, S., 2019). As mitocôndrias, além de gerarem energia, estão envolvidas em processos que se estendem desde a espermatogênese até a fertilização, sendo reguladoras importantes da fertilidade masculina (Park, Y., & Pang, M., 2021).

Compreender os aspectos estruturais e funcionais do espermatozóide humano é fundamental para elucidar os mecanismos que influenciam a fertilidade masculina. Estudos aprofundados nesse campo fornecem informações importantes para o desenvolvimento de métodos contraceptivos eficazes (Zafar, M., Lu, S., & Li, H., 2021).

1.4. Plasma Seminal

O plasma seminal é um fluido biológico de alta complexidade, com funções essenciais no metabolismo, na viabilidade e na fertilidade dos espermatozóides. Responsável por mais de 95% do volume total do sêmen, ele é composto por secreções provenientes das vesículas seminais, próstata, glândulas bulbouretrais, epidídimos e testículos (Giraldo, 2020). Essa composição confere ao plasma seminal a capacidade de regular o metabolismo espermático e de proporcionar um ambiente adequado à sobrevivência e funcionalidade dos espermatozóides nos tratamentos reprodutivos masculino e feminino (Intasqui *et al.*, 2015).

Além dessas funções, o plasma seminal contém uma diversidade de moléculas bioativas indispensáveis ao sucesso reprodutivo. Entre elas, destaca-se a frutose, secretada pelas vesículas seminais, que atua como a principal fonte de energia para a motilidade espermática (Giraldo, 2020).

Ademais, a membrana plasmática do espermatozóide contém receptores de fucose, com afinidade de ligação pela zona pelúcida, e essa interação é essencial para a adesão inicial do espermatozóide ao óvulo, facilitando a penetração ao desencadear uma série de eventos bioquímicos no espermatozóide, incluindo a reação acrossômica, contribuindo para o sucesso da fertilização (Cruz *et al.*, 2014).

O plasma seminal contém diversas moléculas antioxidantes, tanto enzimáticas quanto não enzimáticas, que protegem os espermatozóides dos danos oxidativos. Entre os constituintes enzimáticos, destacam-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e o sistema glutatona peroxidase/reductase (GPX/GSR). Já os

antioxidantes não enzimáticos incluem glutathiona (GSH), vitaminas C, Zn^{2+} e diversos aminoácidos e proteínas (Puerta *et al.*, 2019).

1.5. Parâmetros da Análise Seminal

A análise de sêmen é uma ferramenta crucial na avaliação da fertilidade masculina, sendo utilizada para identificar problemas que podem afetar a capacidade de concepção de um casal. Na 6ª edição do Manual de Análise de Sêmen da Organização Mundial de Saúde (OMS), há um guia passo a passo para avaliar amostras de sêmen e interpretar os resultados, considerando a deterioração da qualidade seminal.

O manual descreve metodologias para a avaliação de variáveis usuais na análise seminal, além de testes de função espermática menos comuns, mas valiosos. Técnicas de preparação do fluido seminal para procedimentos como fertilização *in vitro* e inseminação intrauterina também são detalhadas (Jequier, A., 2010). A edição também aborda a importância do controle de qualidade interno e externo para garantir a confiabilidade dos resultados (Björndahl, L., 2023).

O 6º Manual de Processamento Seminal da OMS classifica a motilidade espermática em quatro tipos principais, conforme demonstrado na Figura 2:

- A. **Motilidade Progressiva Rápida (A)**: Espermatozóides que se movem rapidamente em linha reta ou em grandes círculos, com uma velocidade de deslocamento de $\geq 25,0 \mu\text{m/s}$;
- B. **Motilidade Progressiva Lenta (B)**: Espermatozóides que se movem em linha reta ou em grandes círculos, mas com uma velocidade de deslocamento entre $5,0$ a $< 25,0 \mu\text{m/s}$;
- C. **Motilidade Não Progressiva (C)**: Espermatozóides que se movem, mas não se deslocam de forma linear;
- D. **Imobilidade (D)**: Espermatozóides que não apresentam movimento.

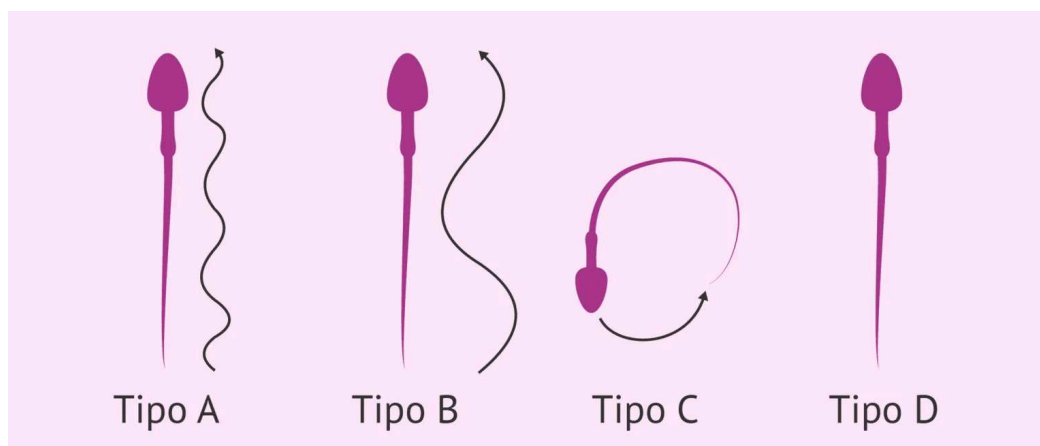


Figura 2: Demonstração dos tipos de motilidade espermática. Fonte: Lopez *et al.*, 2023).

A fosforilação de proteínas desempenha um papel central na regulação da motilidade espermática. Este processo em proteínas como a tubulina, regulada pela adenosina monofosfato cíclico (cAMP), um nucleotídeo derivado do ATP que atua como mensageiro intracelular (Sandoval-Barrantes *et al.*, 2023), é crucial para a motilidade. Por outro lado, o cálcio pode inibir essa fosforilação (J. Tash, A. Means, 1982).

Nesse contexto, é notório que a motilidade espermática depende de vias de sinalização que envolvem cAMP e cálcio, os quais modulam a fosforilação de proteínas no axonema flagelar. A ativação de vias de sinalização específicas é necessária para a capacitação e hiperativação dos espermatozoides, processos essenciais para a fertilização (Freitas; Vijayaraghavan; Fardilha, 2016). A interação entre cAMP, cálcio e quinases, como a proteína quinase A (PKA), é crucial para a regulação da motilidade, com o cálcio desempenhando um papel dual, podendo tanto ativar quanto inibir a motilidade, dependendo das condições e concentrações (Lindemann; Kanous, 1989).

Além disso, a ativação da proteína fosfatase 1 (PP1) e suas interações com outras proteínas também são fundamentais na regulação da motilidade, com a inibição de PP1 resultando em aumento da motilidade (Smith, G. *et al.*, 1996). Os canais iônicos, especialmente o canal CatSper, são críticos para a hiperativação da motilidade espermática, regulando a entrada de cálcio, que atua como mensageiro secundário. Outros canais, como os canais de Ca^{2+} ativados por voltagem e os canais de H^+ ativados por voltagem, também modulam a motilidade ao influenciar o

potencial de membrana e o pH intracelular (Nowicka-Bauer, K., & Szymczak-Cendlak, M. 2021).

No que tange à homeostase de íons, esta é mantida por uma variedade de canais e bombas iônicas. Esses mecanismos garantem a concentração adequada de Ca^{2+} , K^+ e Na^+ , os quais são essenciais para a motilidade espermática (Alavi, S., Cosson, J., Bondarenko, O., & Linhart, O. 2019). A identificação de biomarcadores específicos, como fosfoproteínas regulatórias, pode oferecer novas oportunidades para diagnósticos e tratamentos em tecnologias de reprodução assistida (Martín-Hidalgo *et al.*, 2020).

Por fim, a motilidade progressiva (A + B + C) é um parâmetro essencial na análise de sêmen, frequentemente associado à fertilidade masculina. Este parâmetro avalia a capacidade dos espermatozóides de se moverem de forma eficiente e é um dos melhores preditores de gravidez espontânea (sem tratamento). Além disso, é relevante em tratamentos de fertilidade, como inseminação intrauterina (IIU) e fertilização in vitro (FIV) (Holt-Kentwel *et al.*, 2023). Estudos indicam que a motilidade progressiva pode prever taxas de gravidez em diferentes limiares, destacando sua importância na avaliação da fertilidade.

1.7. O fucoidan e a interação espermatozóide-óvulo

O fucoidan é um polissacarídeo sulfatado encontrado em invertebrados e algas marinhas marrons, constituídos principalmente de L-fucose sulfatada (Braga, 2019) podendo ser encontrada na literatura como fucana, fucosan ou fucana sulfatada (Li *et al.*, 2008). Possui uma estrutura complexa e heterogênea, que inclui diferentes monômeros de açúcar, ligações glicosídicas, massas moleculares, locais de ramificação e padrões de sulfatação (Li *et al.*, 2008).

Apresenta atividades biológicas benéficas em humanos, como efeito antitumoral (Park *et al.*, 2013), antiinflamatório (Sanjeewa *et al.*, 2017), antiobesidade (Kim; Jeon; Lee, 2014), hipolipidêmica (Yokota *et al.*, 2016), anticoagulante/antitrombótica (Ye *et al.*, 2016), antioxidante (Yuan; Macquarrie, 2015) e outras (Braga, 2019). Essas atividades são atribuídas à sua estrutura única e capacidade de modular vias intracelulares chave, regular a acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e manter vias de sobrevivência e morte celular (Pradhan *et al.*, 2020). Devido à sua baixa toxicidade e biocompatibilidade, são investigados como carreadores de fármacos em sistemas de liberação de

medicamentos para oncologia. A presença de resíduos de sulfato permite a formação de complexos iônicos, facilitando a combinação com outros polímeros para aplicações farmacêuticas (Zahariev *et. al.*, 2023).

Este composto tem sido explorado em várias áreas terapêuticas, incluindo o tratamento de doenças renais, modulação do microbioma, e como agente anti-patogênico (Fitton *et. al.*, 2019). Além disso, possui propriedades anticancerígenas promissoras, com estudos mostrando que pode atuar como adjuvante na quimioterapia, aumentando a eficácia e reduzindo a toxicidade na entrega medicamentosa (Etman; Elnaggar; Abdallah, 2019). Na nanomedicina, vem sendo explorado seu potencial como agente de imagem e transportador de medicamentos (Chollet *et al.*, 2016).

Ademais, conforme relatado por Gualtieri R e Andreuccetti (1995), ele interfere na fertilização ao bloquear a adesão e penetração dos espermatozoides nas camadas da zona pelúcida do oócito e seu mecanismo de ação envolve a competição com as glicoproteínas da superfície ovocitária que contêm resíduos de fucose.

O fucoidan, inibe a reação acrossômica induzida pela zona pelúcida em espermatozoides humanos (Mahony *et al.*, 1991). Esse polissacarídeo sulfatado interfere na interação entre o espermatozoide e a zona pelúcida do oócito ao se ligar especificamente aos receptores de fucose presentes na superfície espermática, bloqueando a interação espermatozoide-óvulo (Song *et al.*, 2007). Ademais, o fucoidan inibe a reação acrossômica, um processo indispensável para a fertilização, comprometendo a capacidade do espermatozoide de atravessar a zona pelúcida (Tanghe *et al.*, 2004). Ao inibir essa reação, o fucoidan impede a liberação de enzimas como a acrosina, hialuronidase e fosfolipase A2, que são essenciais para a lise das camadas externas do óvulo, como o cumulus oophorus e a zona pelúcida e a subsequente penetração do espermatozoide (Leggio, Williams e Jones, 1994).

Em um estudo conduzido por Tanghe e colaboradores (2004), evidenciou que o fucoidan promoveu uma redução significativa na motilidade total (cerca de 48%) e progressiva (aproximadamente 36%) dos espermatozoides bovinos durante a primeira hora de incubação. Esses achados reforçam o potencial do fucoidan como modulador da fertilização ao afetar diretamente a motilidade e a funcionalidade espermática.

O estudo de Talevi e Gualtieri (2001) mostrou que o fucoidan inibiu significativamente a adesão dos espermatozoides às células epiteliais do oviduto bovino, que desempenham um papel crucial na manutenção da viabilidade e motilidade dos espermatozoides. A adesão foi marcadamente inibida a uma concentração de 0,1 µg/ml e quase abolida a 1 µg/ml (Talevi, R; Gualtieri, R. 2001). Isso reforça que o fucoidan pode dificultar a interação dos espermatozoides com a zona pelúcida do óvulo, que pode impactar negativamente a motilidade espermática e, conseqüentemente, a capacidade de fecundação.

1.8. Ouabaína: Interações e efeitos na fertilidade masculina

A ouabaína, é uma substância orgânica extraída da planta *Strophantus gratus*, e é encontrada no plasma sanguíneo e em concentrações nanomolares no sêmen bovino e nos fluidos vaginais (Hickey, K.D.; Buhr, M.M.; 2011). Esse composto exerce uma função como agente indutor da sinalização para a capacitação, ao interagir com a proteína $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ presente na membrana plasmática do espermatozoide. Esta interação promove a fosforilação de tirosina em proteínas intracelulares, um processo que induz a capacitação dos espermatozoides de touros (Sajeevadathan, S.M.; Pettitt, M.B., 2019).

Trata-se de um esteróide cardiotônico conhecido por inibir a $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$, desempenhando um papel significativo em diversos processos fisiológicos e patológicos (Thundathil; Rajamanickam; Kastelic, 2018). Este composto tem sido estudado por suas funções em sistemas biológicos, incluindo o sistema cardiovascular, sistema nervoso central e rins, além de suas implicações em doenças como a asma e distúrbios neurológicos.

É conhecida por suas propriedades inibidoras da bomba de sódio, mas também desempenham papéis significativos na reprodução masculina, influenciando a capacitação espermática e a biossíntese de hormônios esteróides.

Em seres humanos, este composto induz a capacitação de espermatozoides através de sua interação com a $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$, uma enzima que regula o equilíbrio de íons sódio e potássio na membrana plasmática dos espermatozoides. Este processo é acompanhado por fosforilação de proteínas e reação acrossômica, sendo mais eficaz que a progesterona na indução desses eventos. Essa interação não apenas inibe a atividade da enzima, mas também ativa vias de sinalização intracelulares (Sajeevadathan, M; Pettitt, M J.; Buhr, M, 2019).

Daniel e colaboradores (2010) demonstraram que a ouabaína regula o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) em espermatozoides bovinos, por meio de um mecanismo de transativação mediada pela Proteína Quinase A (PKA) e pela família de quinases de tirosina do proto-oncogene Src (SRC). A PKA catalisa a transferência de grupos fosfato do ATP para proteínas específicas, modificando sua atividade e contribuindo para a fosforilação do EGFR na tirosina posição 845. Embora a ouabaína promova a reação acrossômica ao aumentar o influxo de íons cálcio (Ca^{2+}) nas células espermáticas, seu efeito inibitório na $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ pode levar a um desequilíbrio iônico, prejudicando a motilidade espermática e comprometendo a capacidade do espermatozóide de alcançar e fertilizar o óvulo (Daniel *et al.*, 2010).

Este esteróide cardiotônico também desempenha um papel significativo na regulação da biossíntese de hormônios, interagindo com a isoforma $\alpha 3$ da bomba de sódio ($\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$), uma enzima de membrana plasmática essencial para o transporte de íons sódio (Na^+) e potássio (K^+) nas células de Leydig. Essa interação ativa uma complexa cascata de sinalização intracelular, que inclui a fosforilação das proteínas Erk1/2 (quinases reguladas por sinais extracelulares 1 e 2), CREB (proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMP cíclico) e ATF-1 (fator de transcrição ativador 1). Como consequência, ocorre a mobilização de gotículas lipídicas e sua associação com a perilipina 2 (PLIN2), uma proteína crucial para a regulação do metabolismo de lipídios dentro das gotículas lipídicas intracelulares. Ao estimular essas vias de sinalização, mimetiza os efeitos do hormônio luteinizante (LH), promovendo a produção de progesterona nas células de Leydig, e, como consequência, há um aumento na biossíntese de progesterona, o que pode ter implicações significativas na fisiologia reprodutiva masculina (Upmanyu *et. al*, 2019).

A ouabaína também interage com duas subunidades polipeptídicas principais, alfa (α) e beta (β), presentes na estrutura da proteína $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$. A ação deste composto é exercida através de sua ligação à subunidade α . Análises identificaram e localizaram essas subunidades, comprovando que a $\alpha 4$ limita-se ao trato reprodutor masculino e responde por aproximadamente dois terços do transporte ativo de Na^+ e K^+ nos espermatozoides (Mcdermott *et. al*, 2021).

A isoforma $\alpha 4$ da $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ (NKA $\alpha 4$), específica dos testículos, é um alvo promissor para contracepção masculina. Derivados de ouabaína foram desenvolvidos para inibir seletivamente esta isoforma, reduzindo a motilidade

espermática e afetando funções essenciais dos espermatozóides, como a motilidade e vitalidade (Syeda et. al, 2020).

A ouabaína tem sido associada à astenozoospermia, uma condição de baixa motilidade espermática. Estudos realizados por Yang e colaboradores (2014) mostraram que a administração intraperitoneal de ouabaína em ratos, em doses de 12,5 µg/kg e 25 µg/kg por dia durante 30 dias, diminuiu significativamente a motilidade dos espermatozóides (cerca de 65% e 70%, respectivamente) de maneira dependente da dose e do tempo de exposição (Yang *et. al*, 2014).

Estudos indicam que homens inférteis apresentam níveis elevados de ouabaína endógena no sêmen, evidenciando a relação entre esses altos níveis e a astenozoospermia. Além disso, a ingestão elevada de sal pode estar associada ao aumento de ouabaína endógena, que inibe a Na, K-ATPase $\alpha 4$, resultando na diminuição da motilidade espermática (Lastra-Vargas et al., 2021).

Lastra-Vargas LM e colaboradores (2021), demonstraram uma correlação entre a alta ingestão de sal e a infertilidade masculina, propondo que a ouabaína endógena (EO) pode ser um elo entre os dois fatores.

Contudo, os autores propõem que a alta ingestão de sal pode levar ao aumento da liberação de ouabaína endógena pelo hipotálamo e pelas glândulas adrenais, inibindo a função enzimática da Na, K-ATPase $\alpha 4$ nos espermatozóides, resultando em motilidade reduzida, capacitação diminuída e defeitos na morfologia, conforme ilustrado na Figura 3 (Lastra-Vargas *et al.*, 2021). Essa associação sugere que a ouabaína endógena elevada, induzida pela alta ingestão de sal presente na alimentação, pode inferir na redução da motilidade espermática.

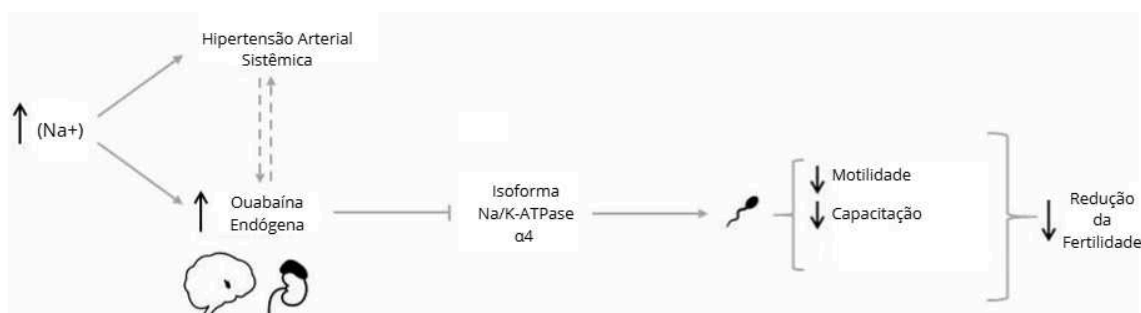


Figura 3: Mecanismo de ação da Na, K-ATPase $\alpha 4$ nos espermatozóides. Fonte: Lastra-Vargas LM *et al.* 2021 (adaptado).

Diante o exposto, é de suma importância buscar por novas formulações com ação espermicida, especificamente para substituir o uso do N-9. A bioprospecção pode ser uma estratégia valiosa nesse contexto, permitindo a descoberta de novos compostos eficazes, e, neste estudo, buscou avaliar os efeitos espermicidas e espermiostáticos do polissacarídeo sulfatado fucoidan e do glicosídeo cardíaco ouabaína, isoladamente e em combinação, sobre espermatozoides humanos em ensaios *in vitro*.

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar a atividade espermicida/espermiostática do polissacarídeo sulfatado fucoidan e do glicosídeo cardíaco ouabaína, em espermatozoides humanos *in vitro*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o mapeamento dos estudos realizados sobre os riscos associados ao uso de métodos contraceptivos hormonais por mulheres em idade fértil;
- Padronizar o protocolo técnico para manuseio da amostra seminal em contato com bioativos derivados de plantas;
- Avaliar os efeitos do fucoidan e da ouabaína (isolados e combinados) sobre a motilidade espermática;
- Determinar a vitalidade espermática após tratamento com fucoidan e ouabaína (isolados e combinados).

3. METODOLOGIA

3.1. Metodologia da análise seminal

3.1.1. Delineamento Experimental

O experimento foi delineado em blocos casualizados, sendo o tempo considerado um bloco (0 e 15 minutos) (Rithaporn, Monga, Rajasekaran, 2003), tendo em vista que a motilidade dos espermatozoides pode ser afetada pelo tempo de exposição aos agentes fucoidan, ouabaína e ao controle positivo (SLS). Nesse sentido, todos os compostos foram diluídos em solução fisiológica (NaCl) a 0,9%: ouabaína (Sigma-Aldrich) em uma concentração de 10^{-5} mol/L (Yang et al., 2014) e fucoidan (Sigma-Aldrich) 1mg/mL (Zayed et al., 2018).

Foi realizada a observação da amostra seminal (10uL) utilizando o método da câmara úmida, tanto sem aditivos (controle negativo, apenas solução fisiológica), quanto em contato com o SLS (controle positivo) e os demais tratamentos: Fucoidan, Ouabaína e Fucoidan + Ouabaína.

A padronização contou com o apoio do embriologista Pablo Henrique Santos e da andrologista Laís Ohana Contarini, colaboradores na clínica de Reprodução Humana Assistida Biofert, que contribuíram de forma significativa para a construção do protocolo técnico da análise seminal seriada.

3.1.2. Comitê de Ética e Pesquisa e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

A pesquisa só foi iniciada após autorização do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e aprovação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob registro CAAE: 79783124.5.0000.5060.

Foram selecionados intencionalmente 15 participantes com base em critérios específicos previamente estabelecidos: não fumantes, com idades entre 18 e 45 anos, e que tenham observado uma abstinência sexual de 72 a 120 horas, conforme recomendado pelo Protocolo Padrão da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Após contato inicial via WhatsApp, a pesquisadora agendou a coleta, orientando os voluntários a chegarem 30 minutos antes para lerem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que foi entregue assinado pela pesquisadora Paula G. Pedras Silva. O experimento e descarte da amostra foram explicados no local de coleta, situado no campus Maruípe da UFES, em ambiente reservado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

3.1.3. Coleta Seminal e Avaliação Espermática

As amostras de sêmen foram produzidas por masturbação e coletadas em recipientes estéreis para transporte imediato ao laboratório. Somente ejaculados com motilidade total maior ou igual a 40%, alterações morfológicas abaixo de 4% e com concentrações superiores a 15×10^6 espermatozoides por mililitro foram submetidos à diluição com os tratamentos propostos.

3.2. Análise Seminal

A concentração de espermatozoides foi determinada usando a câmara de Neubauer (Rigo, 2016) realizada após liquefação em temperatura ambiente (20 °C - 28°C). A alíquota seminal (50 µL) foi diluída em solução fisiológica 0,9% (950 µL) em tubos de microcentrifuga, mantendo a proporção 1:20 para amostras selecionadas para este estudo, distribuindo a alíquota de 10 µL da solução em lâmina tradicional, sob microscopia óptica comum e conforme preconizado pela OMS no “Manual de Laboratório da OMS para o Exame e Processamento do Sêmen Humano - 6ª Edição”. A concentração espermática, nesse sentido, dar-se á após a aplicação da fórmula evidenciada abaixo:

$$\text{Concentração Espermática} = \frac{A}{\frac{1}{10} \times \frac{N}{25} \times \frac{1}{B}}$$

Onde:

A - Número de espermatozoides contados nos 5 retículos (80 quadrados);

B - Fator de Diluição (1:20);

N - Número de quadrados grandes contatos (5);

1/10 = altura da câmara (0,1 mm);

1/25 = área total de um retículo;

Ou seja:

$$\text{Concentração Espermática} = \frac{(\text{Número de espermatozoides contados}) \times 5 \times 20.000}{80}$$

Para a motilidade percentual, esta foi avaliada manualmente pela contagem do número de espermatozoides móveis e imóveis usando fotomicroscópio óptico comum, por um único observador (Rajasekaran et al., 1993), conforme apresentado na Figura 2, que demonstra a bancada para realização dos procedimentos.

O fotomicroscópio utilizado nas análises foi o modelo Leica DM 2500 associado ao uso do *software* de imagem LAS EZ, desenvolvido pela Leica Microsystems, uma ferramenta projetada para a documentação e anotação de imagens em sistemas operacionais Windows (Leica Microsystems, 2025).

A vitalidade espermática foi avaliada por um teste de exclusão utilizando o corante eosina-amarelada para verificar a integridade da membrana celular, empregando a proporção de 1:1:1 e valores de alíquotas iguais (10 µL) de espermatozoides, corante eosina-amarelada e do composto bioativo (Rithaporn, Monga, Rajasekaran, 2003).

3.4. Distribuição nos tratamentos

O sêmen foi analisado após a liquefação da amostra (30 minutos) e foi calculada a concentração de espermatozoide por mililitro, motilidade e vitalidade. As doses dos bioativos foram produzidas em “split sample”, ou seja, para os diferentes tratamentos foi utilizado a mesma amostra seminal.

A padronização da técnica e protocolo foram desenvolvidos após a aprovação do CEP/CONEP e consistiu em: o frasco coletor estéril foi pesado antes de ser entregue ao voluntário e após a entrega da amostra; Durante a liquefação, os tubos de microcentrífuga foram alíquotados com 20 µL do agente e manteve-se a proporção de 1:1; após a liquefação, foi realizada a análise macroscópica da amostra, incluindo pH, viscosidade, cor/aspecto e odor; A próxima etapa foi a análise microscópica: motilidade, nesse momento, alíquotou-se 20 µL de amostra seminal no tubo de microcentrífuga com o composto bioativo, em seguida, agitou-se a amostra por 30 segundos, alíquotou-se 10 µL do conteúdo em lâmina de vidro e cobriu-se com lamínula e analisou-se imediatamente. Para a realização do

experimento, os espermatozóides foram observados nos tempos de 0 e 15 minutos, em todas as condições experimentais: controle positivo (SLS), controle negativo, ouabaína (OUA), fucoidan (FU) e OUA + FU.

Para o teste de vitalidade foi realizada a proporção de 1:1:1, realizando a mesma padronização técnica utilizando tubos de microcentrifuga aliquotados com 10 µL da amostra, 10 µL do reagente e 10 µL de eosina-amarelada. Após agitar, aliquotou-se 10 µL e analisou-se em lâmina e cobriu-se com lamínula imediatamente e verificou-se a vitalidade espermática nos tempos 0 e 15 minutos.

3.5. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média com desvio padrão. A significância estatística foi mensurada pelos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e o teste *post hoc* de Wilcoxon com ajuste de valor-p conforme Benjamini & Yekutieli (2001), comparando os grupos tratados com o controle não tratado, considerando significativo $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Os resultados primários deste estudo incluíram a produção de um artigo de revisão de escopo (Anexo I), realizado por meio do mapeamento de artigos relacionados às desvantagens do uso de contraceptivos hormonais e à sintomatologia percebida submetido à Revista Enfermagem em Foco.

4.1. Resultados dos ensaios de motilidade e vitalidade espermática

Foi realizada a padronização do protocolo técnico para análise seminal em contato com bioativos, considerando a ausência de um protocolo específico na literatura para testes nesse contexto, sendo que a explicação detalhada do protocolo de pesquisa pode ser encontrada no item 3.4.

Os tratamentos Controle Negativo (apenas amostra seminal), Controle Positivo (amostra seminal com SLS), fucoidan (FU), ouabaína (OUA) e FU + OUA foram aplicados e observaram-se as variáveis motilidade e vitalidade nos tempos T0 e T15. A análise estatística foi realizada utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o teste *post hoc* de Wilcoxon com ajuste de valor-p conforme Benjamini & Yekutieli (2001), considerando um nível de significância de 0,05.

Em uma avaliação inicial, a Tabela 1 apresenta uma análise descritiva para os valores de motilidade progressiva e vitalidade de cada tratamento nos tempos T0 e T15, sendo que os dados são apresentados no formato média com desvio padrão.

Tabela 1: Distribuição da motilidade progressiva e vitalidade para diferentes tempos e tratamentos.

Tratamento	Motilidade em T0	Motilidade em T15	Vitalidade em T0	Vitalidade em T15
Controle Negativo	68.3 ±7.80	60.4 ±10.7	65.5 ±6.78	59.1 ±7.48
Controle Positivo (SLS)	55.5 ±11.2	50.7 ±10.3	45.9 ±10.5	40.3 ±12.5
Fucoidan (FU)	55.1 ±8.95	53.0 ±11.1	49.2 ±12.1	44.4 ±10.4
Ouabaína (OUA)	54.1 ±15.3	48.2 ±14.4	46.6 ±14.4	43.9 ±15.1
FU + OUA	49.1 ±10.3	43.3 ±15.4	46.2 ±9.84	38.7 ±12.6

Os dados da Tabela 1 evidenciam reduções significativas na motilidade e vitalidade espermática em todos os tratamentos e tempos analisados, destacando o impacto dos agentes na função celular espermática.

No tempo T0, observou-se diminuição da motilidade espermática em todos os tratamentos: SLS (n= -18,74%), FU (n= -19,32%), OUA (n= -20,8%) e FU + OUA (= -28,1%). Em T15, a redução foi também expressiva: SLS (n= -16,06%), FU (n= -12,25%), OUA (n= -20,19%) e FU + OUA (n= -28,3%).

Esses resultados confirmam a influência direta dos tratamentos na alteração da motilidade e vitalidade espermática, com maior efeito observado na combinação FU + OUA.

Os dados da Tabela 1 destacam uma redução significativa na vitalidade espermática após os tratamentos aplicados, com maior redução observada na combinação FU + OUA, em ambos os tempos avaliados. No tempo T0, o tratamento FU + OUA apresentou uma redução da vitalidade para $46,2 \pm 9,84$, comparado ao controle negativo ($65,5 \pm 6,78$), resultando em uma diminuição de 29,4%.

No tempo T15, o mesmo tratamento evidenciou vitalidade de $38,7 \pm 12,6$, em comparação ao controle negativo ($59,1 \pm 7,48$), correspondendo a uma redução de 34,5%.

Em relação ao controle negativo, todos os tratamentos causaram reduções significativas na vitalidade, mas a combinação FU + OUA demonstrou o maior impacto em ambos os tempos, destacando sua forte influência na diminuição da vitalidade espermática.

Nas próximas seções são apresentadas as comparações entre tratamentos, primeiramente para a motilidade e, posteriormente, para a vitalidade.

4.2. Motilidade

No tempo T0, o teste de Kruskal-Wallis indicou diferenças significativas entre os tratamentos (valor-p < 0,001). O teste *post hoc* revelou que todos os tratamentos reduziram significativamente a motilidade em comparação com o controle negativo, conforme resultados na Figura 4. Diferenças não significativas não são apresentadas. A Figura 4, demonstra que todos os tratamentos reduzem significativamente a motilidade em T0 quando comparados ao controle negativo.

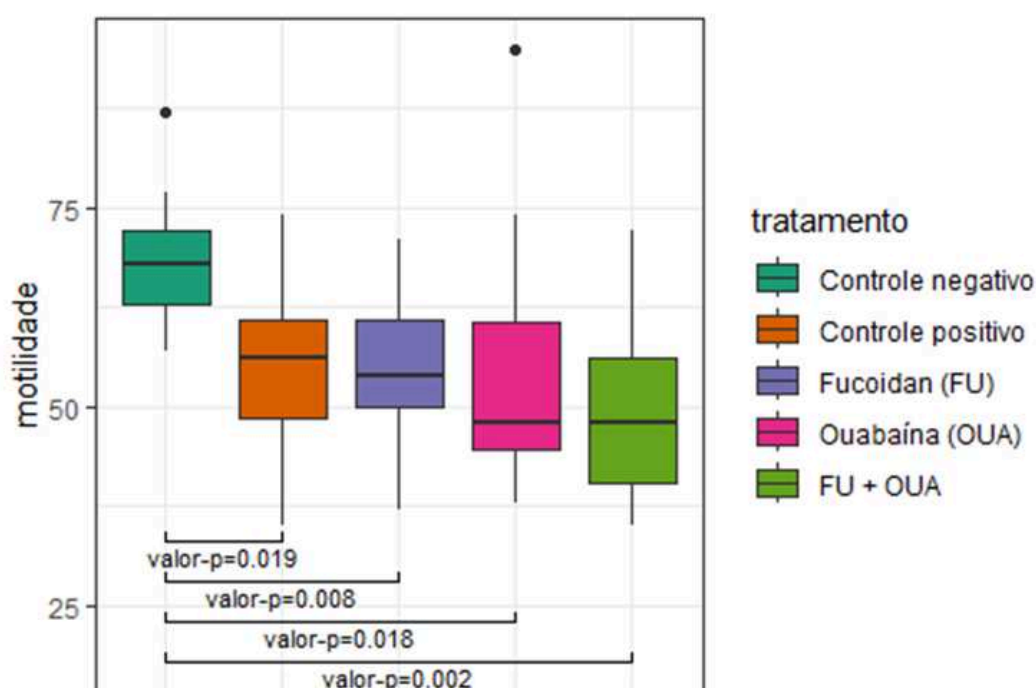


Figura 4. Boxplot da motilidade no tempo T0.

No tempo T15, o teste de Kruskal-Wallis também mostrou diferenças significativas entre os tratamentos (valor-p = 0,003), com o teste *post hoc* indicando uma diferença significativa apenas entre o controle negativo e o tratamento FU + OUA.

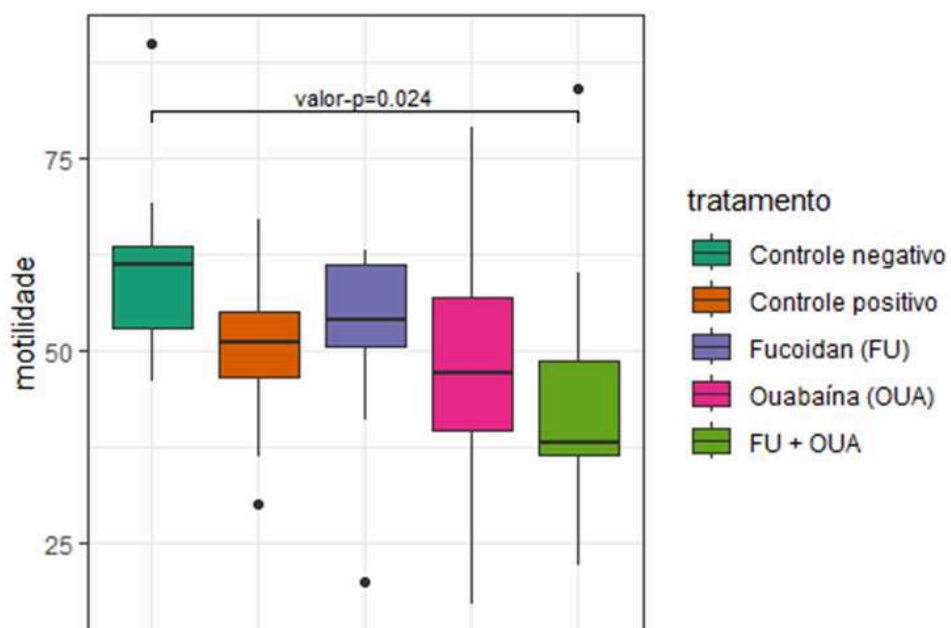


Figura 5. Boxplot da motilidade no tempo T15.

4.3. Vitalidade

Para a vitalidade no tempo T0, o teste de Kruskal-Wallis apontou diferenças significativas entre os tratamentos, e o teste *post hoc* demonstrou que todos os tratamentos reduziram significativamente a vitalidade em comparação com o controle negativo. A Figura 6, mostra que todos os tratamentos reduzem significativamente a vitalidade em T0 quando comparados ao controle negativo.

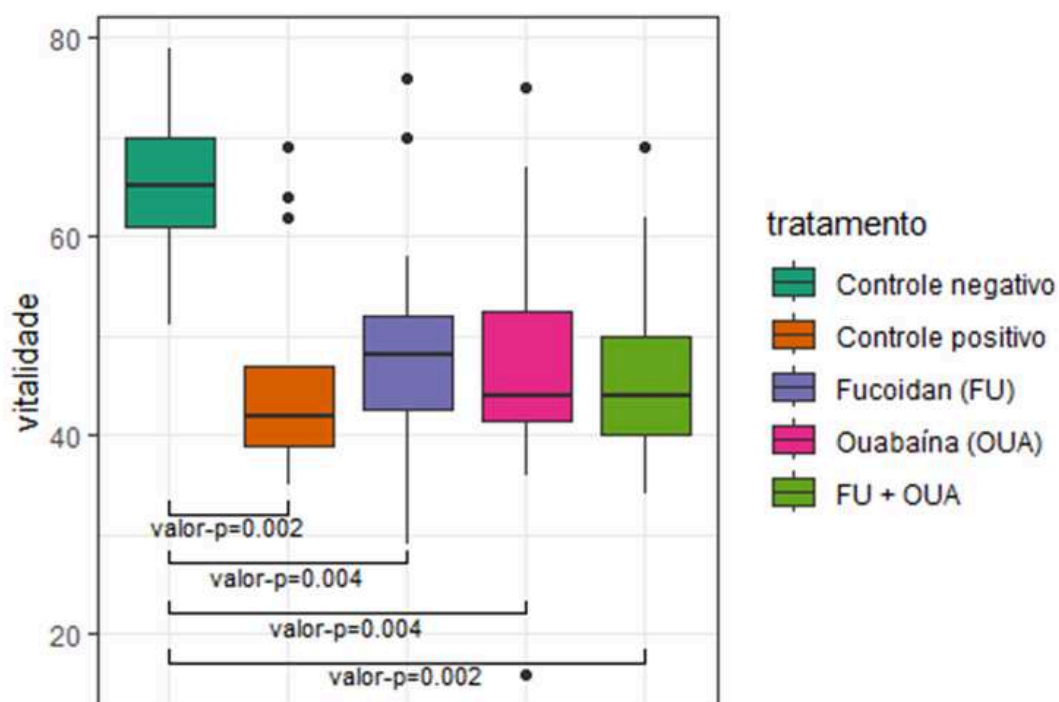


Figura 6. Boxplot da vitalidade no tempo T0.

No tempo T15, o teste de Kruskal-Wallis novamente indicou diferenças significativas entre os tratamentos, com o teste *post hoc* mostrando diferenças significativas entre o controle negativo e todos os demais tratamentos, conforme mostram os resultados apresentados na Figura 7.

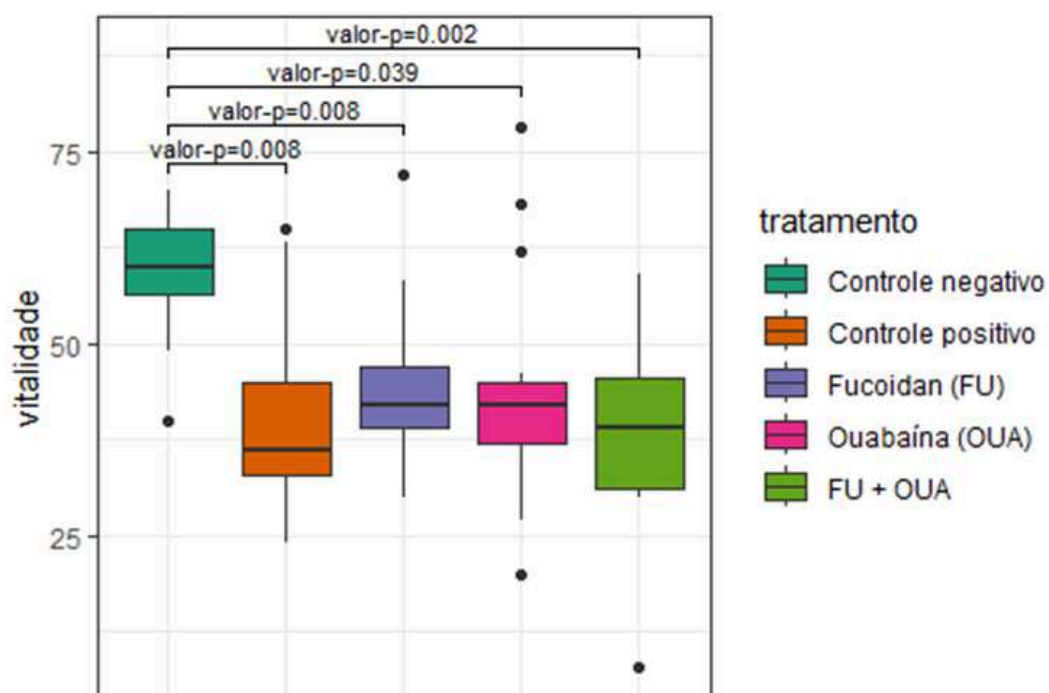


Figura 7. Boxplot da vitalidade no tempo T15.

Foi evidenciado que houve redução da motilidade espermática em todos os tratamentos e ela também é influenciada conforme o tempo. A Figura 8 demonstra a redução da motilidade conforme o tempo e elucida que a maior redução foi encontrada no tratamento com OUA + FU em ambos os tempos de incubação, chegando a uma redução de aproximadamente 30% na motilidade espermática progressiva.

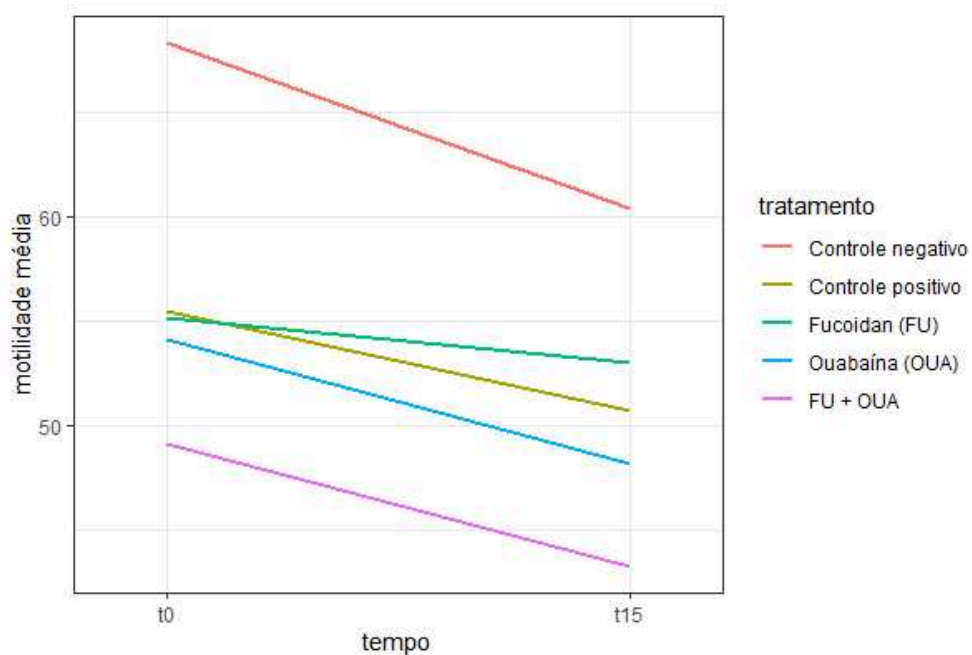


Figura 8: Redução da motilidade espermática progressiva com os tratamentos aplicados e de acordo com o tempo de incubação.

Conforme demonstrado na Figura 9, a redução da vitalidade espermática foi ratificada por este estudo, evidenciando uma diminuição de aproximadamente 16% nos espermatozoides vivos após 15 minutos de incubação com FU+OUA, porém, não se observou diferença estatística quando comparado aos tratamentos isolados.

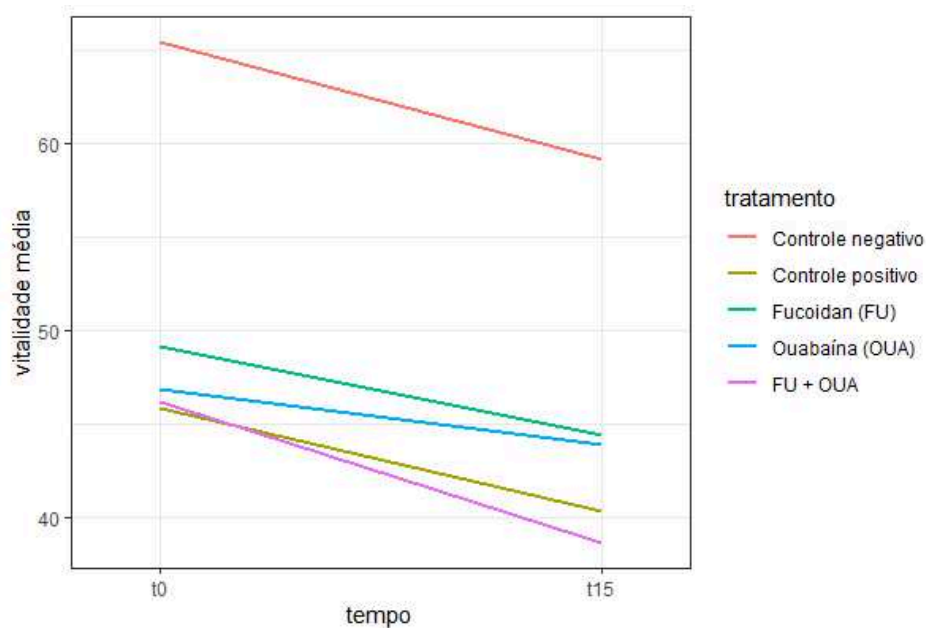


Figura 9: Redução da vitalidade espermática com os tratamentos aplicados e de acordo com o tempo de incubação.

Estes resultados sugerem, principalmente, que a combinação de FU+OUA reduz a motilidade espermática, assim como possui atividade redutora da vitalidade espermática, sendo que o mecanismo de ação do potencial espermicida da combinação FU+OUA deve ser investigado em novos estudos, assim como a citotoxicidade em células da mucosa vaginal deverá ser avaliada.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo fornecem evidências significativas sobre os efeitos dos tratamentos aplicados nas variáveis de motilidade e vitalidade. A análise estatística, utilizando os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Wilcoxon com ajuste de valor-p conforme Benjamini & Yekutieli (2001), revelou diferenças significativas entre os tratamentos do controle OUA + FU nos tempos T0 e T15.

Os resultados do estudo indicam que o fucoidan e a ouabaína, isoladamente ou em combinação, reduziram a motilidade e a vitalidade espermática em comparação ao controle positivo (SLS). Isoladamente, o fucoidan apresentou uma redução de aproximadamente 0,7% na motilidade em T0, enquanto o SLS demonstrou um maior potencial de redução da motilidade em T15. No caso da ouabaína, houve uma redução de 2,52% na motilidade em T0 comparado ao SLS, e esta redução aumentou para aproximadamente 4,93% em T15.

Notavelmente, a combinação de Fucoidan e Ouabaína resultou na maior redução tanto da motilidade em T0 ($n \approx 11,5\%$) quanto em T15 ($n \approx 14,6\%$), quando comparado com o SLS, sugerindo um efeito sinérgico entre os compostos. Esses achados sugerem que a combinação de fucoidan e ouabaína pode ser um agente espermicida mais eficaz do que cada composto usado individualmente.

Os dados obtidos sobre a vitalidade indicam que o controle positivo (SLS) apresenta um potencial espermicida superior em comparação aos controles isolados (FU e OUA). No entanto, a combinação de OUA + FU resultou em uma diminuição mais significativa da vitalidade espermática com uma redução de 0,65% em T0 e aproximadamente 4% em T15.

Baseado nos estudos de Banerjee e colaboradores (2014), a pesquisa de espermicidas vegetais destaca avanços significativos no desenvolvimento de métodos contraceptivos eficazes e seguros a partir de fontes naturais, evidenciando

a importância desse tema no contexto da biotecnologia em saúde (Banerjee *et al.*, 2014).

Compostos como o alitridium, extraído do alho (*Allium sativum*), demonstraram imobilização completa dos espermatozoides em concentrações de 7,5 mg/mL, sem causar irritação vaginal significativa ou efeitos adversos à flora bacteriana vaginal (Qian *et al.*, 1986). Outro composto promissor é o gossipol, derivado das sementes de algodão (*Gossypium spp.*), que inibe a motilidade espermática ao bloquear a produção e utilização de ATP, agindo nas mitocôndrias e impedindo a fosforilação de proteínas (Waller *et al.*, 1980).

Ademais, as saponinas isoladas de *Sapindus mukorosii*, derivadas da hederagenina, foram formuladas no creme contraceptivo "CONSAP", que completou com sucesso os ensaios clínicos de Fase III na Índia, destacando-se como uma alternativa viável aos espermicidas químicos tradicionais (Dhar *et al.*, 1989). A pesquisa também identificou o Mollugogenol A, uma saponina triterpenóide de *Mollugo pentaphylla*, que demonstrou atividade espermicida significativa em concentrações de 300 µg/mL (Rajasekaran *et al.*, 1993).

Outrossim, a decocção de sementes de *Chenopodium album* revelou-se eficaz como espermicida e microbicida, imobilizando espermatozoides em concentrações de 2 mg/mL e prevenindo o crescimento do patógeno *Candida albicans* (Kumar *et al.*, 2007). Esses achados sublinham a relevância e o potencial das alternativas naturais para a contracepção, proporcionando uma abordagem sustentável e segura, com menor risco de irritação vaginal e citotoxicidade. Portanto, a continuidade da pesquisa utilizando bioativos é vital para o desenvolvimento de métodos contraceptivos inovadores e eficazes, promovendo avanços significativos na saúde reprodutiva (Banerjee *et al.*, 2014).

O ambiente marinho é uma fonte rica de produtos bioativos, destacando-se três espécies de algas com potencial espermicida: *C. antennina*, *H. gracilus* e *G. edulis*, com a alga vermelha *G. edulis* sendo a mais eficiente ao demonstrar atividade espermicida significativa devido à presença de compostos bioativos e metabólitos secundários (De Almeida *et al.*, 2011). Alguns extratos de algas causam ruptura da membrana espermática, possivelmente devido aos altos níveis de fosfolipídios e interação com colesterol. Premakumara *et al.* (1996) relataram a atividade contraceptiva da alga vermelha *Gelidiella acerosa* e concluiu-se que as macroalgas marinhas são fontes promissoras de agentes anticoncepcionais.

Nesse contexto, as algas marinhas são uma fonte promissora de substâncias bioativas devido à sua diversidade natural e química. As algas marinhas possuem potenciais bioativos, incluindo propriedades antibacterianas (Rosaline *et al.*, 2012), antivirais (Sinha *et al.*, 2010), antifúngicas (Guedes *et al.*, 2012), citotóxicas (Spavieri *et al.*, 2010) e larvicidas (Cetin *et al.*, 2010). O fucoidan, isolado das algas, inibe a ligação inicial de espermatozóides à zona pelúcida humana (Patankar *et al.*, 1993) e possui propriedades microbicidas vaginais e contraceptivas (Zeitlin *et al.*, 1997) e compostos derivados de algumas algas interferem na fertilização e desenvolvimento embrionário de invertebrados e vertebrados.

Prakash *et al.* (2003) avaliaram doze extratos etanólicos de algas marinhas para suas atividades espermicidas *in vitro*. O extrato de *Halimeda gracilis* se destacou, demonstrando 100% de inibição da motilidade espermática após 20 segundos de incubação, na concentração de 10 mg/mL. A análise fitoquímica indicou a presença de alcaloides, flavonoides, proteínas e açúcares, sugerindo que o efeito sinérgico desses compostos contribui para a robusta atividade contraceptiva do extrato (Prakash *et al.*, 2003).

Ansari e colaboradores (2017), realizaram um mapeamento de estudos e obtiveram um total de 317 referências utilizando 204 plantas para a regulação da fertilidade em mulheres ao longo de um período de 68 anos (1947-2015). Neste trabalho, foi explorado maneiras pelas quais a fitoterapia pode contribuir para o planejamento familiar e reprodutivo ao identificar a atividade farmacológica das plantas e seu potencial uso, mapear ensaios clínicos em andamento e destacar o uso de derivados do *Carica papaya* como anticoncepcionais unissex.

A atividade espermicida do fucoidan foi estudada a partir da sua estrutura química, conforme estudado por Patankar *et al.* (1993), e é composta por polímeros de fucose α -1,3 com substituições de grupos sulfato na posição 4. Essa estrutura apresenta semelhanças marcantes com os ligantes de carboidratos sulfatados que se conectam às selectinas, permitindo que o mecanismo de ação do fucoidan seja a partir da interferência, de maneira competitiva, com os ligantes naturais da zona pelúcida e resultando na inibição da ligação do esperma humano à zona pelúcida, consequentemente, impedindo a adesão e a reação acrossômica subsequente, ou seja, impedindo a fecundação (Patankar *et al.*, 1993).

Por sua vez, a ouabaína tem demonstrado um efeito significativo na redução da motilidade espermática (Daniel *et al.*, 2010). Estudos indicam que a ouabaína

exerce essa influência ao inibir a isoforma NKA α 4, essencial para a motilidade dos espermatozoides. Os espermatozoides maduros têm isoformas α 1 e α 4, mas o α 4 tem uma afinidade e sensibilidade significativamente maiores à Ouabaína (Syeda *et al.*, 2020).

McDermott e colaboradores (2021) realizaram uma pesquisa com camundongos e constatou que a aplicação de ouabaína na concentração de 10^{-6} M resultou em uma inibição substancial da motilidade total, progressiva e hiperativa dos espermatozoides. Esta dosagem seletivamente inibe a NKA α 4 sem afetar a NKA α 1, que tem um papel menos relevante na motilidade espermática. Esses achados sugerem que a ouabaína pode impactar negativamente a capacidade dos espermatozoides de se moverem, o que pode ter implicações importantes para a diminuição da motilidade espermática (McDermott *et al.*, 2021).

Woo e colaboradores (2000) demonstraram que a isoforma α 4 é presente no flagelo dos espermatozoides maduros e que sua inibição resulta na perda de motilidade espermática. O gene ATPase Na⁺/K⁺ Transporte Subunidade Alfa 4 (ATP1A4) codifica uma subunidade alfa específica da Na⁺/K⁺ATPase, uma enzima de membrana crucial para a manutenção dos gradientes eletroquímicos de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺) através da membrana plasmática. A especificidade tecidual da isoforma Na, K-ATPase α 4 foi evidenciada por um estudo que utilizou a proteína fluorescente verde (GFP) e o gene promotor ATP1A4. Este promotor direciona a expressão de GFP de forma específica ao tecido, ocorrendo no testículo de camundongos adultos (McDermott *et al.*, 2012). Este promotor direciona a expressão de GFP de forma específica ao tecido, ocorrendo apenas no testículo de camundongos adultos (McDermott *et al.*, 2012). Esses achados corroboram que as isoformas α 4 são exclusivas e restritas às células germinativas das gônadas masculinas que avançaram para os estágios finais da espermatogênese (Lastra-Vargas LM *et al.*, 2021).

A NKA α 4 é essencial para manter baixos os níveis intracelulares de sódio [Na⁺]_i nos espermatozoides. A aplicação de ouabaína aumentou significativamente [Na⁺]_i nos espermatozoides (Syeda *et al.*, 2020). Lastra-Vargas LM e colaboradores (2021), demonstraram uma correlação entre a alta ingestão de sal e a infertilidade masculina, propondo que a ouabaína endógena (EO) pode ser um elo entre os dois fatores.

Os resultados apresentados neste estudo são condizentes com os encontrados na literatura, nos quais constataremos a seguir a diminuição da motilidade progressiva das células espermáticas quando em contato com os compostos bioativos.

5.1. Motilidade

No tempo T0, todos os tratamentos reduziram significativamente a motilidade em comparação com o controle negativo, conforme indicado pelo teste de Kruskal-Wallis (valor- $p < 0,001$) e confirmado pelo teste *post hoc*. Esses resultados sugerem que os tratamentos aplicados têm um impacto imediato na redução da motilidade em comparação com o controle negativo em T0, conforme consta na Tabela 1. Essa redução foi de aproximadamente 19,3% para o tratamento com FU, 20,8% para o tratamento com OUA e 28,1% para o tratamento combinado FU + OUA.

No tempo T15, o tratamento FU + OUA continuou a mostrar uma redução significativa na motilidade em comparação com o controle negativo (valor- $p = 0,003$), indicando um efeito prolongado deste tratamento específico e apresentou a maior redução na motilidade, com uma diminuição de aproximadamente 28,3% em relação ao controle negativo.

5.2. Vitalidade

Para a vitalidade, os resultados foram semelhantes. No tempo T0, todos os tratamentos reduziram significativamente a vitalidade em comparação com o controle negativo (valor- $p < 0,001$). No tempo T15, todos os tratamentos continuaram a mostrar diferenças significativas em relação ao controle negativo (valor- $p = 0,003$), sugerindo que os efeitos dos tratamentos na vitalidade são consistentes ao longo do tempo, porém, não se observou maior inibição quando dos tratamentos combinados.

Esses achados, em conjunto, sugerem a eficácia dos tratamentos aplicados em reduzir tanto a motilidade quanto a vitalidade das amostras analisadas, com destaque para a combinação FU + OUA em reduzir a motilidade espermática. A continuidade dos efeitos observados no tempo T15, especialmente para o tratamento FU + OUA, sugere que este pode ser um tratamento promissor para aplicações biotecnológicas futuras. No entanto, é importante considerar os custos

associados a cada tratamento para uma análise completa de custo-benefício e os resultados obtidos neste trabalho devem ser reavaliados em estudos com maior número de participantes.

5.3. As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e a interação com os compostos estudados

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) são geradas durante o metabolismo aeróbico dos espermatozóides e neutrófilos. O desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes resulta em estresse oxidativo, o qual compromete as membranas celulares espermáticas devido à presença de ácidos graxos poli-insaturados, afetando motilidade, vitalidade e capacidade fecundante. Além disso, o estresse oxidativo pode danificar o DNA espermático, comprometendo o desenvolvimento embrionário (Nguyen-Powanda, P., & Robaire, B. 2020).

Não há registros na literatura que abordem a capacidade do fucoidan gerar EROs quando em contato com células espermáticas, porém, sugere-se que a interação do composto com a membrana espermática, *à priori*, poderia desencadear uma série de eventos bioquímicos e ligar-se aos receptores fucose e ativar enzimas oxidativas como a NADPH oxidase, responsável pela produção de superóxido ($O_2^{\bullet-}$). *À posteriori*, o superóxido gerado pode ser rapidamente convertido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD). O H_2O_2 é uma ERO menos reativa, mas pode causar danos significativos às células se não for adequadamente neutralizado (Barbosa *et. al*, 2014). O dano oxidativo é bem-sucedido quando, em resposta ao aumento das EROs, os espermatozóides ativam mecanismos de defesa antioxidante, incluindo enzimas como a catalase e glutathione peroxidase, que ajudam a neutralizar as EROs e minimizar o dano celular, sendo essa a resposta antioxidante, porém, mais estudos são essenciais para confirmar este mecanismo de ação.

O fucoidan aumenta EROs em linhagens celulares HeLa, danifica mitocôndrias, ativa autofagia e altera a acetilação das histonas, impactando genes essenciais à sobrevivência celular (Mustafa S, Pawar SJ, Ghosh I., 2021). Inibe a reação acrossômica via interação com a membrana espermática, superada pelo aumento de cálcio intracelular (Mahony *et. al*, 1991). As evidências sugerem que os glicoconjugados sulfatados são potentes inibidores dose-dependente da adesão e liberação de espermatozoides do epitélio oviductal (Talevi *et. al* 2001).

A interação entre a ouabaína e os espermatozóides resulta na geração de EROs através de um mecanismo específico: a ouabaína, ao inibir a $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase } \alpha 4$, leva a um desequilíbrio iônico nas células espermáticas. Esse desequilíbrio provoca um aumento na concentração intracelular de cálcio, o que, por sua vez, ativa várias enzimas que produzem EROs. Elas podem causar danos significativos às proteínas, como a actina e a tubulina, e aos fosfolípidios da membrana plasmática dos espermatozóides. Além disso, há evidências de que as EROs podem causar fragmentação do DNA espermático, comprometendo sua integridade e viabilidade (Chianese; Pierantoni, 2021; Zhu *et al.*, 2019; Jiménez *et al.*, 2010).

A exposição à ouabaína diminui a motilidade progressiva dos espermatozoides e este efeito é dose dependente. A concentração de 10^{-5} mol/L reduziu a motilidade espermática de 86,9% para 59,5%, cerca de 31%, após 1 hora de incubação in vitro (YANG *et al.*, 2014).

Conforme elucidado anteriormente, há evidências de que a ouabaína afeta a função espermática, especialmente através da inibição da isoforma $\alpha 4$ da $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$, que é essencial para a motilidade espermática (Syeda *et al.*, 2020). A inibição dessa isoforma pela ouabaína pode levar à deterioração dos espermatozóides, afetando a motilidade, o potencial de membrana e a homeostase iônica.

Ao inibir seletivamente a $\text{NKA}\alpha 4$ nos espermatozóides, ocorre a promoção da despolarização da membrana plasmática e esse efeito resulta da incapacidade da $\text{NKA}\alpha 4$ de manter a distribuição adequada de Na^+ e K^+ através da membrana (Syeda *et al.*, 2020). A despolarização interfere diretamente na motilidade dos espermatozóides e na capacitação, um processo essencial para a fertilização. A Figura 10 ilustra a cascata de reações que levam à inibição da $\text{NKA}\alpha 4$ pela ouabaína, conseqüentemente, leva a um aumento no cálcio intracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) e na acidificação do citoplasma, comprometendo diversos parâmetros de movimento flagelar e, conseqüentemente, alterando a fertilidade masculina (Syeda *et al.*, 2018).

Além disso, o gradiente de Na^+ gerado pela $\text{NKA}\alpha 4$ é utilizado pelos mecanismos de transporte secundário para manter os níveis citosólicos adequados de H^+ e Ca^{2+} (Syeda *et al.*, 2020). Um potencial de membrana adequado é vital para a motilidade espermática, e a hiperpolarização da membrana plasmática é fundamental para a capacitação dos espermatozóides (Thundathil; Rajamanickam; Kastelic *et al.*, 2018).

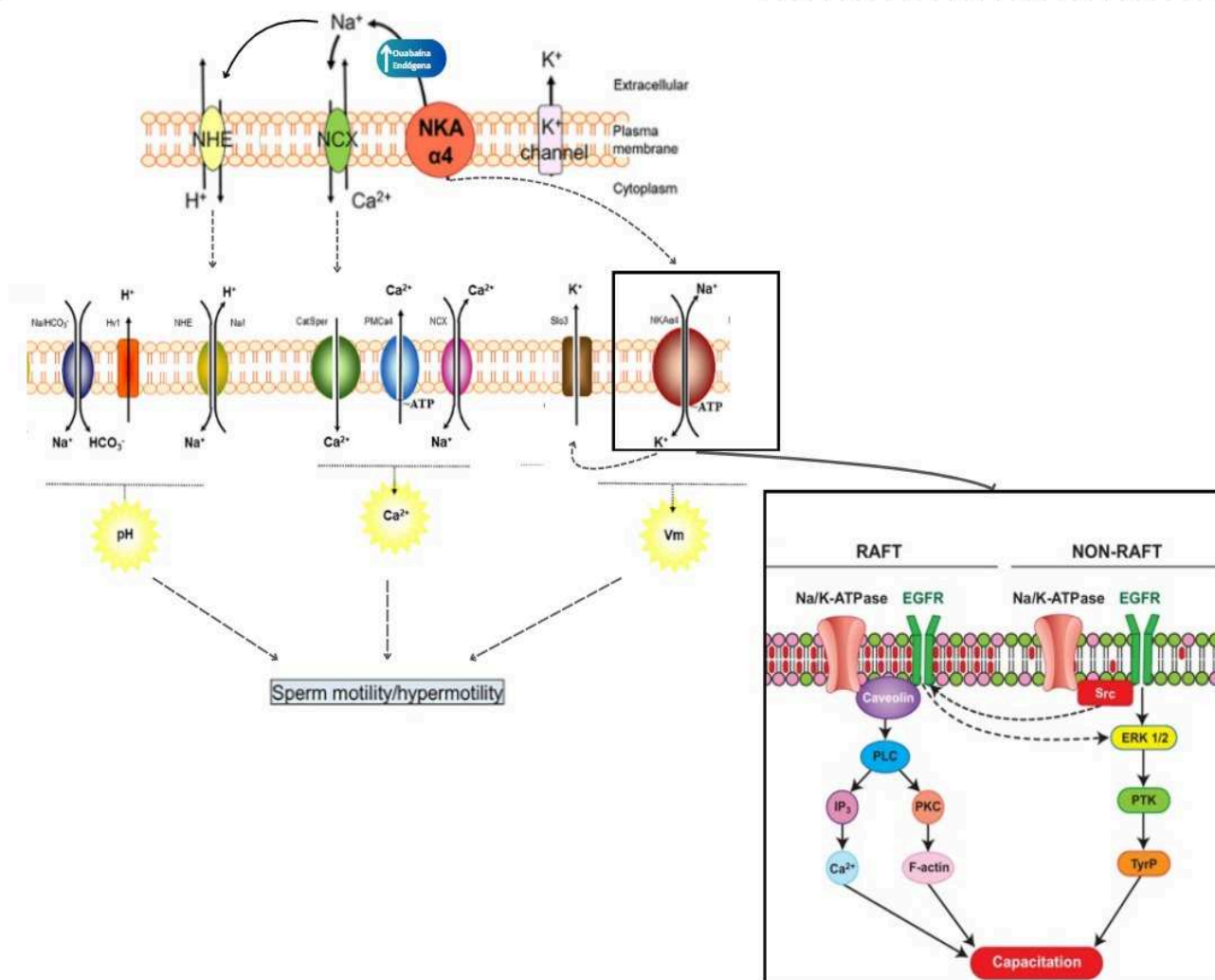


Figura 10. Representação esquemática da cascata de reações que levam à inibição da NKA α 4 pela ouabaína, os principais sistemas de transporte iônico na fisiologia espermática e a relação da NKA α 4, e um modelo hipotético apresentando as vias de sinalização mediadas por ATP1A4 em microdomínios específicos da membrana do esperma bovino durante a capacitação. *Fontes:* Lastra-Vargas LM *et al.* (2021); Syeda *et al.* (2020); Thundathil *et al.* (2018) (adaptado).

Conforme elucidado pela literatura, a NKA α 4 desempenha um papel crucial na manutenção do gradiente transmembrana de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺) e do potencial da membrana celular (Lastra-Vargas *et al.*, 2021).

Na Figura 10 também é demonstrado como a ATPase de cálcio da membrana plasmática (PMCA4), e o trocador de sódio/cálcio (NCX), são fundamentais para a regulação dos níveis de cálcio nos espermatozoides. O canal

de K^+ específico dos espermatozoides (SLO3), é um canal de potássio que influencia o potássio intracelular e o potencial da membrana. O trocador sódio-hidrogênio (NHE), uma proteína de membrana que desempenha um papel crucial na regulação do pH intracelular e na homeostase de íons nas células, o cotransportador de sódio/bicarbonato (Na/HCO_3^-) e o canal de prótons (Hv1) são essenciais para o aumento do pH dos espermatozoides.

Portanto, embora o dano oxidativo direto em células espermáticas não seja amplamente documentado, há a inibição da $Na^+/K^+ATPase$ pela ouabaína e possivelmente pelo fucoidan, além da subsequente disfunção celular que sugerem um potencial para danos oxidativos e comprometimento da função espermática.

Outrossim, é de suma importância elucidar que Thundathil e colaboradores (2018) verificaram que durante a capacitação de sêmen bovino à fresco, foi identificado que a ATP1A4 desempenha papéis distintos em microdomínios especializados da membrana plasmática (Figura 10). Nos microdomínios raft (ricos em colesterol e esfingolipídios), a ATP1A4 interage com caveolina-1 (CAV1), ativando a fosfolipase C (PLC), o que resulta em um aumento do cálcio intracelular e na polimerização da actina. Fora destes microdomínios, nas regiões non-raft (não especializadas), a ATP1A4 interage com o proto-oncogene Src, uma tirosina quinase não receptora, e com o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), ativando as quinases reguladas por sinais extracelulares ERK1/2. Este mecanismo promove, de forma significativa, a fosforilação de proteínas mediada por tirosina quinase, um processo crucial para a regulação de diversas funções celulares, incluindo proliferação, diferenciação e sobrevivência celular (Thundathil *et al.* 2018). Essas interações distintas resultam em alterações associadas à capacitação, preparando o espermatozoide para a fertilização. Além disso, a fusão entre as regiões *raft* e *non-raft*, devido ao efluxo de colesterol, pode amplificar ou iniciar novas vias de sinalização, abrindo caminho para futuras pesquisas sobre a capacitação espermática.

Utilizando espectrometria de massa de imunoprecipitação para comparar o perfil de interactoma da ATP1A4 entre frações de membrana especializadas (microdomínios ricos em colesterol) e não especializadas de espermatozoides capacitados, Thundathil e colaboradores (2018) incluiu a análise proteômica em seus estudos, que revelou a fração não especializada, que incluía hexoquinase, placofilina 1, proteína 14-3-3, catepsina D e proteína de choque térmico, enquanto a

desintegrina e metaloproteinase (ADAM) e anexina A2 eram exclusivas da fração especializada. A actina e a placoglobina estavam presentes em ambas as frações. Essas proteínas estão envolvidas em interações espermatozóide-oócito, metabolismo e atividade da protease, atuando como adaptadores e proteínas do citoesqueleto. Foi evidenciado a placoglobina, entre outras proteínas, devido à sua interação significativa com a ATP1A4, encontrando-se no segmento equatorial dos espermatozóides capacitados (Thundatil *et al.*, 2018). A relevância fisiológica das interações Na/K-ATPase-placoglobina ainda precisa ser investigada.

Por conseguinte, alguns estudos indicam que o fucoidan pode bloquear a ligação de moléculas de adesão celular, como a E-caderina e as cateninas, que desempenham um papel crucial na fusão gamética, através da regulação negativa da via no local de integração relacionado a wingless/ β -catenina (Wnt/ β -catenina), fundamental para a regulação da proliferação celular, diferenciação e migração durante o desenvolvimento embrionário e em processos de regeneração tecidual além da importância na sinalização celular e outras vias associadas, como a fosfoinosítídeo 3-quinase/proteína quinase B (PI3K/Akt), crucial para a sobrevivência celular, crescimento e metabolismo, atuando de forma a regular o metabolismo de glicose e síntese de proteínas (Xue *et al.*, 2013). Dado que a placoglobina é uma proteína da família das cateninas e interage com a ATP1A4, é provável que o fucoidan possa interferir nesse processo de adesão/fusão espermatozóide-oócito ao alterar essas interações proteicas.

Além disso, é válido ressaltar que o fucoidan possui forte afinidade pela P-selectina, uma molécula de adesão que desempenha um papel crucial em várias condições patológicas (Novoyatleva, T *et al.*, 2019). A P-selectina foi identificada na região equatorial dos espermatozoides humanos após a reação acrossômica, sugerindo seu papel na adesão e fusão dos gametas durante a fertilização (Geng *et al.*, 1997). Desse modo, as selectinas podem desempenhar um papel na adesão inicial do espermatozóide à zona pelúcida, e a interferência do fucoidan nessa interação pode modular negativamente a fertilização ao perturbar os complexos de sinalização mediados pela ATP1A4 e a placoglobina, destacando a importância de futuras investigações para elucidar esses mecanismos e suas implicações na biologia reprodutiva.

O Sulfato Lauril de Sódio (SLS) é conhecido por reduzir a motilidade espermática humana, sendo capaz de inibir 50% dessa motilidade em uma

concentração de 279,2 µg/ml após apenas 30 segundos de exposição, conforme descrito por Haineault et al. (2003). Além disso, o SLS apresenta um efeito irritante significativo nas membranas mucosas, podendo causar microfissuras e lesões, de acordo com Bidevkina et al. (2020) e Rovira et al. (2021). No que diz respeito à mucosa oral, o SLS pode contribuir para o aumento de bactérias patogênicas, favorecendo processos inflamatórios nessa região. Esses efeitos evidenciam o impacto potencialmente nocivo do SLS em diversos contextos biológicos.

6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os tratamentos, tanto isolados quanto combinados, demonstraram eficácia equivalente ao controle positivo e superou o controle negativo. Possui potencial promissor como base para o desenvolvimento de novos agentes espermicidas ou espermiostáticos. Mais pesquisas são necessárias para avaliar possíveis impactos a longo prazo nos tecidos reprodutivos e promover a segurança genotóxica e citotóxica, verificar interações sistêmicas que podem ser desencadeadas pela absorção dos compostos e assegurar que os tratamentos não causem irritações ou lesões no tecido vaginal, minimizando desconforto e riscos de infecções.

As análises estatísticas evidenciaram diferenças significativas entre os tratamentos nos tempos T0 e T15, com destaque para o tratamento combinado do fucoidan com a ouabaína, que não apenas gerou a maior diminuição na motilidade, mas também demonstrou um efeito prolongado ao longo do tempo. Além disso, a interação dos compostos investigados com as espécies reativas de oxigênio (EROs) sugere um possível mecanismo de ação que comprometeria a integridade celular e a função espermática. Esses achados reforçam o potencial dos tratamentos estudados para futuras aplicações biotecnológicas, embora seja imprescindível a consideração dos custos envolvidos. Outrossim, esses resultados abrem caminho para o desenvolvimento de novos agentes espermicidas ou espermiostáticos, com aplicações potenciais em biotecnologia, saúde reprodutiva e controle de fertilidade, exigindo, no entanto, investigações adicionais para aprimorar a eficácia, segurança e viabilidade econômica desses tratamentos (isolados ou combinados). Ressalta-se, ainda, que os agentes espermicidas devem ser cuidadosamente avaliados quanto à sua eficácia, segurança e impacto nos tecidos reprodutivos e no feto em desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

Alfaiate, M., Santos, R., Silva, A., Sousa, A., Almeida-Santos, T., Gendron, C., Jabbour, V., Mas, Y., Verrière, F., Ramalho-Santos, J., & Tavares, R. (2021). **Comparative in vitro study on the local tolerance and efficacy of benzalkonium chloride, myristalkonium chloride and nonoxynol-9 as active principles in vaginal contraceptives.** *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*, 26, 334 - 342. <https://doi.org/10.1080/13625187.2021.1900563>. Acesso em 11 jan 2025.

Alavi, S., Cosson, J., Bondarenko, O., & Linhart, O. (2019). **Sperm motility in fishes: (III) diversity of regulatory signals from membrane to the axoneme.** *Theriogenology*, 136, 143-165 . <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.038>. Acesso em 25 de jan de 2025.

Ansari, A.S, K. Sevliya, I. Mohammad, A. Badar and N.K. Lohiya, 2017. **Plants for female fertility regulation: A review.** *J. Pharmacol. Toxicol.*, 12: 57-75. Acesso 25 jan 2025.

Arriola, J., & Foote, R. (2001). **Accessory sperm as an indication of fertilizing ability of rabbit spermatozoa frozen in egg yolk-acetamide with detergent.** *Journal of andrology*, 22 3, 458-63 . <https://doi.org/10.1002/J.1939-4640.2001.TB02202.X>. Acesso 25 jan 2025.

Barbosa, Marta Ribeiro; Silva, Marina Medeiros De Araújo; Willadino, Lilia; Ulisses, Claudia; Camara, Terezinha Rangel. **Geração E Desintoxicação Enzimática De Espécies Reativas De Oxigênio Em Plantas.** *Ciência Rural*, Santa Maria, V.44, N.3, P.453-460, Mar. 2014. Disponível em: <https://Www.Scielo.Br/J/Cr/A/Stm4dybrnlzwbppnz7gbvk/?Lang=Pt&Format=Pdf>. Acesso Em: 11 Jan. 2025.

Baker, B., & Grant, J. **Sodium Lauryl Sulfate Profile** (2018). *Integrated Pest Management*, Cornell University, Geneva NY. 2018. Disponível em:

<https://ecommons.cornell.edu/server/api/core/bitstreams/760502fe-b2d5-4d66-b5c7-850b11e1818/content>. Acesso em: 05 fev. 2025.

Banerjee M, Hazra A, Bharitkar YP, Mondal NB (2014) **Insights of Spermicidal Research: An Update**. JFIV Reprod Med Genet 3: 138. doi:10.4172/2375-4508.1000138. Acesso em 25 de set de 2024.

Björndahl, L. **The 6th edition of the WHO manual for the examination and processing of human semen: How should it affect our practice?** (2023) Human Reproduction. <https://doi.org/10.1093/humrep/dead093.345>. Acesso em 25 de jan de 2025.

Bayer. **Pesquisa Nacional sobre Anticoncepção** (2016). Disponível em: <https://www.bayer.com.br/pt/2-pesquisa-nacional-sobre-anticonceppao.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2023.

Braga, P. C. **Fucoidan: Structure and Bioactivity**. Molecules, v. 13, n. 8, p. 1671-1695, 2019. DOI: 10.3390/molecules13081671. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Brandt, G. P.; Oliveira, A. P. R.; Burci L. M. **Anticoncepcionais hormonais na atualidade: um novo paradigma para o planejamento familiar**. RGS, v. 18, n. 1, p. 54-62, 2018. Disponível em: Acesso em: 29 agosto de 2023.

Brasil. Constituição (1988). **Constituição da República Federativa do Brasil de 1988**. Brasília, DF: Presidência da República. Disponível em: Planalto. Acesso em: 30 de mar de 2023.

Brasil. **Lei nº 9.263, de 12 de janeiro de 1996. Regula o § 7º do art. 226 da Constituição Federal, que trata do planejamento familiar, estabelece penalidades e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 jan. 1996. Disponível em: Planalto. Acesso em: 30 de mar de 2023.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica. Saúde sexual e saúde reprodutiva** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 1. ed., 1. Reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 300 p. : il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 26).

Brown, S., Publicover, S., Barratt, C., & Da Silva, S. (2019). **(Dis)função do canal iônico do esperma humano: implicações para a fertilização**. *Atualização da Reprodução Humana*, 25, 758 - 776. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz032>. Acesso 25 nov 2024.

Cánovas S, Pilar C. Aspectos moleculares de la fecundación: unión y fusión de gametos. *Rev Invest Clín*. 2008; 60(5): 403-413. Acesso 20 out 2024.

Cetin H, Gokoglu M, Oz E (2010) **Larvicidal activity of the extract of seaweed, *Caulerpa scalpelliformis* against *Culex pipiens***. *J Am Mosq Control Assoc* 26:433–435. Acesso em 25 de set de 2024.

Chakraborty, S., Saha, S. **Compreender os mecanismos de motilidade espermática e a implicação das moléculas de superfície espermática na promoção da motilidade**. *Médio Oriente Fertil Soc J* 27, 4 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43043-022-00094-7>. Acesso em 20 de out 2024.

Chianese, R., & Pierantoni, R. (2021). **Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) Production Alters Sperm Quality**. *Antioxidants*, 10. <https://doi.org/10.3390/antiox10010092>. Acesso 25 jan 2025.

Chollet, L., Saboural, P., Chauvierre, C., Villemin, J., Letourneur, D., & Chaubet, F. (2016). **Fucoidans in Nanomedicine**. *Marine Drugs*, 14. <https://doi.org/10.3390/md14080145>. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Cruz, Daniel Filipe; Freitas, Maria João; Patrício, António; Fardilha, Margarida. **Vias De Sinalização Reguladoras Das Funções Do Espermatozóide**. *Revista*

Internacional De Andrologia, V. 12, N. 3, P. 104-111, 2014. Disponível Em: Www.Elsevier.Es/Andrologia. Acesso Em: 6 Jul. 2024.

Daniel, Limor; Etkovitz, Nir; Weiss, Shirel Rosenwasser; Rubinstein, Sara; Ickowicz, Debby; Breitbart, Haim. **Regulation of the sperm EGF receptor by ouabain leads to initiation of the acrosome reaction.** *Developmental Biology*, v. 344, n. 2, p. 650-657, 2010. Acesso em 26 de ago de 2024.

Dhar, J. D.; Bajpai, V. K.; Setty, B. S.; Kamboj, V. P. **Morphological Changes In Human Spermatozoa As Examined Under Scanning Electron Microscope After *In Vitro* Exposure To Saponins Isolated From *Sapindus Mukorossi*.** *Contraception*, V. 39, P. 563-568, 1989. Acesso 10 jan 2025.

Diniz, D.; Medeiros, M.; Madeiro, Ap; Cavenaghi, S.; Braga, Gca; Rodrigues, Ad; Ocké-Reis, Co; Silva, Ra; Barbosa, Rms **Pesquisa Nacional de Aborto (2016).** Brasília: Anis - Instituto de Bioética, 2018. 142p. Disponível em: https://anis.org.br/wp-content/uploads/2018/08/Pesquisa_Nacional_de_Aborto_2016.pdf . Acesso em: 26 abr. 2023.

Etman, S., Elnaggar, Y., & Abdallah, O. (2019). **"Fucoïdan, a natural biopolymer in cancer combating: From edible algae to nanocarrier tailoring"**. *International journal of biological macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.191>. Acesso 10 de out de 2024.

Ferreira, L. F.; D'ávila, A. M. F. C.; Safatle, G. C. B. **O uso da pílula anticoncepcional e as alterações das principais vias metabólicas.** *Femina*, v. 47, n. 7, p. 426-32, 2019. Disponível em: . Acesso em: 15 de junho de 2023.

Fitton, H., Stringer, D., Park, A., & Karpinić, S. (2019). **Therapies from fucoïdan: New Developments.** *Marine Drugs*, 17. <https://doi.org/10.3390/md17100571>.

Flesch FM, Barend MG.. **Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization.** Biochim Biophys Acta. 2000; 1469(3): 197-235. Acesso em 23 ago 2024.

Freitas, M., Vijayaraghavan, S., & Fardilha, M. (2016). **Signaling mechanisms in mammalian sperm motility.** Biology of Reproduction, 96, 2 - 12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.144337>. Acesso em 25 de jan de 2025.

Geng, J., Raub, T., Baker, C., Sawada, G., , L., & Elhammer, Å. (1997). **Expression of a P-selectin Ligand in Zona Pellucida of Porcine Oocytes and P-selectin on Acrosomal Membrane of Porcine Sperm Cells. Potential Implications for Their Involvement in Sperm–Egg Interactions.** The Journal of Cell Biology, 137, 743 - 754. <https://doi.org/10.1083/JCB.137.3.743>.

Giraldo, C. A. **Determinação de proteínas do plasma seminal usando cromatografia de exclusão molecular em touros jovens.** Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, v. 4, n. 2, 2021. DOI: 10.34188/bjaerv4n2-024.

Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) **Results Global Health Data Exchange website: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)**, Seattle, WA, 2019. Acessado em 19 de jun de 2023.

Guedes EAC, Araujo MAS, Souza AKP, de Souza LIO, Barros LD, Maranhã FCA, Goulart Sant'Ana AE (2012) **Antifungal activities of different extracts of marine macroalgae against dermatophytes and Candida Species.** Mycopathologia 174:223–232. Acesso em 25 de set de 2024.

Gualtieri, R. e Andreuccetti, P. (1996). **Localização de carboidratos na superfície do ovo e fertilização em *Discoglossus pictus* (Anura).** Cell Tissue Res, 283(1), 173-181. Acesso em 02 de janeiro de 2025.

Gualtieri, R.; Mollo, V.; Barbato, V.; Talevi, R. **Ability Of Sulfated Glycoconjugates And Disulfide-Reductants To Release Bovine Epididymal Sperm Bound To The**

Oviductal Epithelium In Vitro. Theriogenology, [S.L.], V. 73, N. 8, P. 1037-1043, 2010. Doi: 10.1016/J.Theriogenology.2009.11.030. Acesso 20 jan 2025.

Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al. **Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men.** N Engl J Med 2001; 345(19):1388–1393. Acesso 20 out 2024.

Hickey, Katie D.; BUHR, Mary M. **Characterization of Na⁺K[±]ATPase in bovine sperm.** Theriogenology, v. 77, n. 7, p. 1369-1380, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.0452>. Acesso em: 28 nov. 2023.

Hillier, S. L.; Moench, T.; Shattock, R.; Black, R.; Reichelderfer, P.; Veronese, F. **The Story of Nonoxynol 9. JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes,** v. 39, n. 1, p. 1-8, 1 maio 2005. DOI: 10.1097/01.qai.0000159671.25950.74.

Holt-Kentwell, A., McLernon, D., Ntessalen, M., Bhattacharya, S., & Maheshwari, A. (2023). P-065 **A systematic review of the accuracy of laboratory semen analysis as a test of fertility.** Human Reproduction. <https://doi.org/10.1093/humrep/dead093.430>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2015. **Brasil em síntese** Disponível em: <https://brasilemsintese.ibge.gov.br/populacao/taxas-de-fecundidade-total.html>. Acesso em: 26 abr. 2023.

Jequier, A. (2010). **Semen analysis: a new manual and its application to the understanding of semen and its pathology.** Asian journal of andrology, 12 1, 11-3 .DOI <https://doi.org/10.1038/aja.2009.12>. Acesso em 25 de jan de 2025.

Intasqui, P.; Antoniassi, M. P.; Camargo, M.; Nichi, M.; Carvalho, V. M.; Cardozo, K. H. M.; Zylbersztejn, D. S.; Bertolla, R. P. **Differences in the seminal plasma proteome are associated with oxidative stress levels in men with normal semen**

parameters. *Fertility and Sterility*, v. 104, n. 2, p. 292-301, 2015. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.04.037. Acesso 20 de set 2023.

Jiménez, T., Sánchez, G., Wertheimer, E., & Blanco, G. (2010). **Activity of the Na,K-ATPase alpha4 isoform is important for membrane potential, intracellular Ca²⁺, and pH to maintain motility in rat spermatozoa.** *Reproduction*, 139 5, 835-45 . <https://doi.org/10.1530/REP-09-0495>. Acesso 25 jan 2025.

Kasi, S., Özcan, M., & Feilzer, A. (2022). **Side effects of sodium lauryl sulfate applied in toothpastes: A scoping review.** *American journal of dentistry*, 35 2, 84-88 .Acesso 20 de set de 2025.

Kim, K. J.; Jeon, Y. J.; Lee, S. H. **Anti-obesity effects of fucoïdan.** *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 25, n. 5, p. 456-463, 2014. DOI: 10.3904/kjim.2014.29.6.738. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Klebanoff, S. J. (1992). **Effects of the Spermicidal Agent Nonoxynol-9 on Vaginal Microbial Flora.** *Journal of Infectious Diseases*, 165(1), 19–25. doi:10.1093/infdis/165.1.19

Lastra-Vargas LM, García-Castro GE, Ocasio-Estévez CM, Estape ES, (2021) **Endogenous Ouabain: A Possible Link between High Salt Intake and Male Infertility.** *Reproductive Sys Sexual Disord*.10:256. doi: 10.35248/2161-038X.1000256. Acesso 20 jan 2025.

Kumar, S.; Biswas, S.; Mandal, D.; Roy, H. N.; Chakraborty, S.; Kabir, S. N. **Chenopodium Album Seed Extract: A Potent Sperm-Immobilizing Agent Both *In Vitro* And *In Vivo*.** *Contraception*, V. 75, N. 1, P. 71-78, 2007.Acesso 25 jan 2025.

Lastra-Vargas, Luis M.; García-Castro, Gabriel E.; Ocasio-Estévez, Carolia M.; Estape, Estela S. **Endogenous Ouabain: A Possible Link Between High Salt Intake And Male Infertility.** *Reproductive System And Sexual Disorders: Current Research*, V. 10, N. 4, P. 256, 2021. Acesso Em 10 De Out 2024.

Lee, S., Kiattiburut, W., Schinkel, S., Angel, J., & Tanphaichitr, N. (2023). **Safety of multiple administrations of spermicidal LL-37 antimicrobial peptide into the mouse female reproductive tract.** *Molecular human reproduction*. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaad023>. Acesso em: 27 fev. 2025.

Leskur, D., Bukić, J., Petrić, A., Zekan, L., Rušić, D., Šešelja Perišin, A., Modun, D. (2019). **Anatomical Site Differences of Sodium Lauryl sulphate Induced Irritation: randomised controlled trial.** *British Journal of Dermatology*. doi:10.1111/bjd.17633. Acesso em: 27 fev. 2025.

Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). **Fuoidan: Structure and Bioactivity.** *Molecules*, 13, 1671 - 1695. <https://doi.org/10.3390/molecules13081671>. Acesso em 20 de nov de 2024.

Lindemann, C., & Kanous, K. (1989). **Regulation of mammalian sperm motility.** *Archives of andrology*, 23 1, 1-22 . <https://doi.org/10.3109/01485018908986783>. Acesso em 25 de jan de 2025.

Lo Leggio, L., Williams, R. M., & Jones, R. (1994). **Some effects of zona pellucida glycoproteins and sulfated polymers on the autoactivation of boar sperm proacrosin and activity of -acrosin.** *Reproduction*, 100(1), 177–185. doi:10.1530/jrf.0.1000177 Acesso em 20 ou 2024.

Lopez, Leonor Ortega; Álvarez, María Velasco; Gómez, Marta Barranquero; Masip, Mónica Aura; Reus, Rebeca. **¿Qué valores son normales en el análisis de la movilidad espermática?** *Reproducción Asistida*, 17 maio de 2023. Acesso em 10 jan 2025.

Maia, M., Bicudo, S., Azevedo, H., Sousa, D., Rodello, L., & De Meira, C. (2008). **Efeito Da Adição De Lauril Sulfato De Sódio (Oep) Ao Diluidor Na Viabilidade Do Sêmen Congelado De Ovinos.** *Santa Inês.* , 15, 521-530. Acesso em 28 de jan de 2025.

Martín-Hidalgo, D., Serrano, R., Zaragoza, C., García-Marín, L., & Bragado, M. (2020). **Human sperm phosphoproteome reveals differential phosphoprotein signatures that regulate human sperm motility.** *Journal of proteomics*, 103654 . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103654>. Acesso em 18 jan de 2025.

McDermott, J. P., Sánchez, G., Mitra, A., Numata, S., Liu, L. C., & Blanco, G. (2021). **Na,K-ATPase $\alpha 4$, and Not Na,K-ATPase $\alpha 1$, is the Main Contributor to Sperm Motility, But its High Ouabain Binding Affinity Site is Not Required for Male Fertility in Mice.** *The Journal of Membrane Biology*. doi:10.1007/s00232-021-00181-2. Acesso em 28 de abril de 2024.

McDermott JP, Sánchez G, Chennathukuzhi V, Blanco G. **Green fluorescence protein driven by the Na, K-ATPase $\alpha 4$ isoform promoter is expressed only in male germ cells of mouse testis.** *J assist reprod genet.* 2012;29(12):1313-1325. Acesso em 25 de jan de 2025.

Novoyatleva, T., Kojonazarov, B., Owczarek, A., Veeroju, S., Rai, N., Henneke, I., Böhm, M., Grimminger, F., Ghofrani, H., Seeger, W., Weissmann, N., & Schermuly, R. (2019). **Evidence for the Fucoidan/P-Selectin Axis as a Therapeutic Target in Hypoxia-induced Pulmonary Hypertension.** *American journal of respiratory and critical care medicine*, 199 11, 1407-1420 . <https://doi.org/10.1164/rccm.201806-1170OC>. Acesso em 20 de jan de 2025.

Nowicka-Bauer, K., & Szymczak-Cendlak, M. (2021). **Structure and Function of Ion Channels Regulating Sperm Motility—An Overview.** *International Journal of Molecular Sciences*, 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22063259>. Acesso em 28 de abril de 2024.

Oliveira, Aline Saraiva de. **Localização da NA^+,K^+ -ATPase em espermatozóides ovino in natura, pós-descongelamento e capacitados in vitro e determinação dos efeitos de seu bloqueio sobre as características espermáticas.** 2018. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018. Acesso em 28 de julho de 2024.

Organização Mundial Da Saúde. **OMS laboratory manual for the examination and processing of human semen**. 6. ed. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2021. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332009>. Acesso em: 23 ago. 2024.

Park, Y., & Pang, M. (2021). **Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From Spermatogenesis to Fertilization**. *Antioxidants*, 10. <https://doi.org/10.3390/antiox10010098>. Acesso em 20 de janeiro de 2025.

Piret, J., Laforest, G., Bussi eres, M., & Bergeron, M. (2008). **Subchronic (26- and 52-week) toxicity and irritation studies of a novel microbicidal gel formulation containing sodium lauryl sulfate in animal models**. *Journal of Applied Toxicology*, 28. <https://doi.org/10.1002/jat.1262>. Acesso em 28 de jan de 2025.

Cao LM, Sun ZX, Makale EC, Du GK, Long WF, Huang HR. **Antitumor activity of fucoidan: a systematic review and meta-analysis**. *Transl Cancer Res*. 2021 Dec;10(12):5390-5405. doi: 10.21037/tcr-21-1733. PMID: 35116386; PMCID: PMC8798841. Acesso em 20 de janeiro de 2025.

Pavlidis, I., Spiller, O., Demarco, G., Macpherson, H., Howie, S., Norman, J., & Stock, S. (2020). **Cervical epithelial damage promotes Ureaplasma parvum ascending infection, intrauterine inflammation and preterm birth induction in mice**. *Nature Communications*, 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14089-y>. Acesso em 20 de janeiro de 2025.

Patankar MS, Oehninger S, Barnett T, Williams RL, Clark GF (1993) **A revised structure for fucoidan may explain some of its biological activities**. *J Biol Chem* 268:21770–21776. Acesso em 20 jan 2025.

Pompermaier, C.; Zanella, G. Z.; Paludo, E. **Efeitos Colaterais Do Uso Dos Contraceptivos Hormonais Orais: Uma Revisão Integrativa**. (2021) *Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Xanxerê*, [S. l.], v. 6, p. e27975, 2021. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/apeux/article/view/27975>. Acesso em: 19 jun. 2023.

Pradhan, B., Patra, S., Nayak, R., Behera, C., Dash, S., Nayak, S., Sahu, B., Bhutia, S., & Jena, M. (2020). **Multifunctional role of fucoidan, sulfated polysaccharides in human health and disease: A journey under the sea in pursuit of potent therapeutic agents.** *International journal of biological macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.019>. Acesso em: 6 jul. 2024.

Puerta Suarez, Jenniffer; Carvajal Obando, Alejandro; Cardona Maya, Walter D.. **Relación entre los antioxidantes y la calidad seminal.** *Rev Cubana Obstet Ginecol*, Ciudad de la Habana , v. 45, n. 2, p. , jun. 2019 . Disponível em <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2019000200011&lng=es&nrm=iso>. Acesso em 25 jan de 2025.

Prakash, S.; Shah, H. C.; Tatke, P.; Singh, K. K. **Spermicidal activity of Indian seaweeds: an in vitro study.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 89, n. 1, p. 123-127, 2003. DOI: 10.1016/S0378-8741(03)00234-5. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Premakumara, G. A. S., Ratnasooriya, W. D., & Tillekeratne, L. M. V. (1995). **Studies on the post-coital contraceptive mechanisms of crude extract of Sri Lankan marine red algae, Gelidiella acerosa.** *Contraception*, 52(3), 203–207. DOI :10.1016/0010-7824(95)00150-9. Acesso em 25 jan de 2025.

Qian, Y. X.; Shen, P. J.; Xu, R. Y.; Liu, G. M.; Yang, H. Q. **Spermicidal Effect In Vitro By The Active Principle Of Garlic.** *Contraception* (1986) V. 34, N. 3, P. 295-302, 1986. Acesso em 10 set 2024.

Rithaporn, T., Monga, M., & Rajasekaran, M. (2003). **Curcumin: a potential vaginal contraceptive.** *Contraception*, 68(3), 219–223. doi:10.1016/s0010-7824(03)00163-x. Acesso em 26 de ago de 2024.

Rajasekaran, M.; Nair, A. G. R.; Hellstrom, W. J. G.; Sikka, S. C. **Spermicidal Activity Of An Antifungal Saponin Obtained From The Tropical Herb Mollugo Pentaphylla.** *Contraception*, V. 47, N. 5, P. 401-412, 1993. Acesso Em 25 De Set De 2024.

Rosaline XD, Sakthivelkumar S, Rajendran K, Janarthanan S (2012) **Screening of selected marine algae from the coastal Tamilnadu, South India for antibacterial activity.** Asian Pac J Trop Biomed 1:S140–S146. Acesso 28 jan 2025.

Sajeevadathan, Mrudhula; Pettitt, Murray J.; Buhr, Mary. **Interaction of ouabain and progesterone on induction of bull sperm capacitation.** Theriogenology, [S.l.], v. 126, p. 191-198, 2019. ISSN 0093-691X. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.12.003>. Acesso em: 27 nov. 2024.

Sandoval-Barrantes, Manuel; Vega-Baudrit, José Roberto; Piedra-Marín, Gilberto; Syedd-León, Randall; Rivera-Álvarez, Andrea; Bermúdez Campos, Katya; Coy Herrera, Ricardo. **Student Camps to Promote Scientific Vocations in STEM: The Quimi Camp Case.** Uniciencia, Heredia, v. 37, n. 1, p. 1-15, jan./dez. 2023. Disponível em: 1. Acesso em: 18 jan. 2025.

Sanjeeva, K. A.; et al. **Anti-inflammatory properties of fucoidan.** Marine Drugs, v. 15, n. 4, p. 234-245, 2017. DOI: 10.1186/s41240-018-0095-y. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Sinha S, Astani A, Ghosh T, Schnitzler P, Ray B (2010) **Polysaccharides from Sargassum tenerrimum: structural features, chemical modification and anti-viral activity.** Phytochemistry 71:235–242. Acesso 28 jan 2025.

Shukla, A., Jamwal, R., & Bala, K. (2016). **Adverse effect of combined oral contraceptive pills.** Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 10(1), 1-5. Acessado em:27 abril de 2023.

Smith, G., Wolf, D., Trautman, K., Da Cruz E Silva, E., Greengard, P., & Vijayaraghavan, S. (1996). **Primate sperm contain protein phosphatase 1, a biochemical mediator of motility.** Biology of reproduction, 54 3, 719-27 . <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD54.3.719>. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Song, X. X.; Park, C. K.; Piao, Y. J.; Niwa, K. **Effect of Monosaccharide L-fucose and Polysaccharide fucoidan on Sperm α -L-fucosidase Activity and Relation to Sperm-oocyte Interaction in Pig.** (2007) Asian-Aust. J. Anim. Sci., v. 20, n. 3, p. 351-358, mar. 2007. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Sousa, A. K. A. D.; Pinto, K. K. D. A.; Aparecido, L. G.; Silva, T. R. D.; Júnior, W. L. A. **Contexto histórico dos anticoncepcionais hormonais e seus efeitos colaterais no organismo feminino: uma revisão bibliográfica** (2021). Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Centro Universitário Una, Bom Despacho, 2021. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/bitstream/ANIMA/19296/1/TCC.pdf> Acesso em 20 jan 2025.

Spavieri J, Almendinger A, Kaiser M, Casey R, Wilson HS, Lalvani A, Guiry MD, Blunden G, Taesdemir D (2010) **Antimycobacterial, antiprotozoal and cytotoxic potential of twenty-one brown algae from British and Irish waters.** Phytother Res 24:1724–1729. Acesso em 25 de set de 2024.

Syeda SS, Sánchez G, McDermott JP, Hong KH, Blanco G, Georg GI. **The Na⁺ and K⁺ transport system of sperm (ATP1A4) is essential for male fertility and an attractive target for male contraception** (2020) Biology of Reproduction, Oxford University Press on behalf of Society for the Study of Reproduction, v. 103, n. 2, p. 343-356, 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/biolreprod/article/103/2/343/5858029>. Acesso em: 27 nov. 2023.

Syeda SS, Sánchez G, Hong KH, Hawkinson JE, Georg GI, Blanco G. **Design, Synthesis, and *in vitro* and *in vivo* Evaluation of Ouabain Analogues as Potent and Selective Na,K-ATPase α 4 Isoform Inhibitors for Male Contraception.** J Med Chem. 2018 Mar 8;61(5):1800-1820. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b00925. Epub 2018 Jan 19. PMID: 29291372; PMCID: PMC5846083. Acesso em 09 de setembro de 2024.

Talevi, Riccardo; Gualtieri, Roberto. Sulfated **Glycoconjugates Are Powerful Modulators of Bovine Sperm Adhesion and Release from the Oviductal Epithelium *in vitro***. *Biology of Reproduction*, v. 64, n. 2, p. 491-498, 2001. DOI: 10.1095/biolreprod64.2.491. Acesso em 20 de jan de 2025.

Tash, J., & Means, A. (1982). **Regulation of protein phosphorylation and motility of sperm by cyclic adenosine monophosphate and calcium**. *Biology of reproduction*, 26 4, 745-63 . <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD26.4.745>.

Thundathil, Jacob C.; Rajamanickam, Gayathri D.; Kastelic, John P. **Na/K-ATPase and Regulation of Sperm Function**. *Anim Reprod*. 2018 Aug 3;15(Suppl 1):711-720. doi: 10.21451/1984-3143-AR2018-0024. PMID: 36249829; PMCID: PMC9536046. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Tupam Editores SA. **Nonoxinol (Nonoxinol-9) - Informação Geral**. Índice.eu. Disponível em: <https://www.indice.eu/pt/medicamentos/DCI/nonoxinol-nonoxinol-9/informacao-geral>. Acesso em: 11 jan. 2025.

Universidade Federal de Goiás. **Espermatozoide**. Acervo de imagens CIAR, 2025. Disponível em: <<https://acervodeimagens.ciar.ufg.br/acervo/espermatozoides/>>. Acesso em: 09 fev. 2025.

Upmanyu, N., Dietze, R., Bulldan, A., & Scheiner-Bobis, G. (2019). **Cardiotonic steroid ouabain stimulates steroidogenesis in Leydig cells via the $\alpha 3$ isoform of the sodium pump**. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. doi:10.1016/j.jsbmb.2019.04.021. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Villela, W. V. & Arilha, M. (2003). **Sexo & vida: panorama da saúde reprodutiva no Brasil**. In E. Berquó (Ed.), *Sexo & vida: panorama da saúde reprodutiva no Brasil* (pp. 95-150). Campinas: UNICAMP. Acesso em: 19 jun. 2024.

Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H., & Song, S. (2019). **Biological Activities of fucoïdan and the Factors Mediating Its Therapeutic Effects: A Review of Recent Studies**. *Marine Drugs*, 17. <https://doi.org/10.3390/md17030183>.

Waller, D. P.; Zaneveld, L. J. D.; Fong, H. H. S. **In Vitro Spermicidal Activity Of Gossypol**. *Contraception*, V. 22, N. 3, P. 183-187, 1980. Acesso Em 18 Jan 2025.

World Health Organization. **Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. Effect of different progestagens in low oestrogen oral contraceptives on venous thromboembolic disease**. *Lancet*. 1995; 346 (8990): 1582-8.

Woo AL, James PF, Lingrel JB. **Sperm motility is dependent on a unique isoform of the Na, K-ATPase**. *J Biol Chem*. 2000;275(27):20693-20699. Acesso 25 jan 2025.

Xia, M., Yang, M., Wang, Y., Tian, F., Hu, J., Yang, W., Tao, S., Lu, L., Ding, X., Jiang, S., & Li, W. (2020). **dl-Mandelic acid exhibits high sperm-immobilizing activity and low vaginal irritation: A potential non-surfactant spermicide for contraception**. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 126, 110104 . <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110104>. Acesso em: 27 fev. 2025.

Xu, M.; Zhao, M.; Li, R. H. W.; Lin, Z.; Chung, J. P. W.; Li, T. C.; Lee, T.-L.; Chan, D. Y. L. **Efeitos do nonoxynol-9 (N-9) sobre a função espermática: revisão sistemática e metanálise**. *Reprod Fértil*, v. 3, n. 1, p. R19–R33, 1 jan. 2022. DOI: 10.1530/RAF-21-00242.

Xue, M., Ge, Y., Zhang, J., Liu, Y., Wang, Q., Hou, L., & Zheng, Z. (2013). **Fucoïdan Inhibited 4T1 Mouse Breast Cancer Cell Growth In Vivo and In Vitro Via Downregulation of Wnt/ β -Catenin Signaling**. *Nutrition and Cancer*, 65(3), 460–468. <https://doi.org/10.1080/01635581.2013.757628>

Yang, Y., Wan, Y., Lou, H., Xue, T., & Su, P. (2014). **Relationship between ouabain and asthenozoospermia**. Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences], 34(1), 87–90. doi:10.1007/s11596-014-1236-x. Acesso em 25 de set de 2024.

Ye, H.; et al. **Anticoagulant and antithrombotic activities of fucoidan**. Thrombosis Research, v. 137, n. 3, p. 123-130, 2016. DOI: 10.1038/ncomms11930. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Yokota, T.; et al. **Hypolipidemic effects of fucoidan**. Journal of Lipid Research. v. 57, n. 2, p. 345-352, 2016. DOI: 10.1126/sciadv.1501856. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Yuan, Y.; Macquarrie, D. J. **Antioxidant properties of fucoidan**. Food Chemistry, v. 174, p. 123-130, 2015. Acesso em 25 de janeiro de 2025.

Zafar, M., Lu, S., & Li, H. (2021). **Interação espermatozóide-oócito: uma visão geral do papel do espermatozóide na ativação do oócito e perspectivas atuais em diagnóstico e tratamento de fertilidade**. Cell & Bioscience , 11. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00520-1>. Acesso em 24 ago 2024

Zahariev, N., Katsarov, P., Lukova, P., & Pilicheva, B. (2023). **Novel fucoidan Pharmaceutical Formulations and Their Potential Application in Oncology—A Review**. Polymers, 15. <https://doi.org/10.3390/polym15153242>. Acesso em 24 ago 2024

Zayed, A.; Hahn, T.; Finkelmeier, D.; Burger-Kentischer, A.; Rupp, S.; Krämer, R.; Ulber, R. **Phenomenological investigation of the cytotoxic activity of fucoidan isolated from *Fucus vesiculosus***. Process Biochemistry, v. 81, p. 182-187, 2018. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.03.026. Acesso 28 de nov 2024.

Zeitlin L, Whaley KJ, Hegarty TA, Moench TR, Cone RA (1997) **Tests of vaginal microbicides in the mouse genital herpes model**. Contraception 56:329–335. Acesso em 20 de jul 2024.

Zhu, Z., Kawai, T., Umehara, T., Hoque, S., Zeng, W., & Shimada, M. (2019). **Negative effects of ROS generated during linear sperm motility on gene expression and ATP generation in boar sperm mitochondria.** *Free radical biology & medicine*, 141, 159-171 . <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.06.018>.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Constituição (1988). **Constituição da República Federativa do Brasil de 1988**. Brasília, DF: Presidência da República. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Constituicao/. Acesso em: 30 de mar de 2023.

BRASIL. Lei nº 9.263, de 12 de janeiro de 1996. **Regula o § 7º do art. 226 da Constituição Federal, que trata do planejamento familiar, estabelece penalidades e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 jan. 1996. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9263.htm. Acesso em: 30 de mar de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica. Saúde sexual e saúde reprodutiva / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica** 1. edição, Brasília, Ministério da Saúde, 2013. Acesso em 04 de abril de 2023.

Trindade RE, Siqueira BB, Paula TF, Felisbino-Mendes MS. (2021). **Uso de contracepção e desigualdades do planejamento reprodutivo das mulheres brasileiras**. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2021, 26, 3493–3504. Acesso em 04 de abril de 2023.

Teal S, Edelman A. **Contraception Selection, Effectiveness, and Adverse Effects: A Review**. *JAMA*. 2021 Dec 28;326(24):2507-2518. DOI: 10.1001/jama.2021.21392. PMID: 34962522. Acesso em 04 de abril de 2023.

Organização das Nações Unidas. **Objetivo 5: alcançar a igualdade de gênero e empoderar todas as mulheres e meninas,2015**. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/gender-equality/>. Acesso em 22 de abril de 2024.

Organização das Nações Unidas (ONU). **Uso de Anticoncepcionais por Método 2019**. Disponível em: <https://doi.org/10.18356/1bd58a10-en>. Acesso em: 20 de maio de 2024..

Brabaharan S, Veettil SK, Kaiser JE, et al. **Associação do uso de contraceptivos hormonais com desfechos adversos à saúde: uma revisão abrangente de metanálises de ensaios clínicos randomizados e estudos de coorte**. JAMA Netw Aberto. 2022; 5(1):e2143730. DOI:10.1001/jamanetworkopen.2021.43730

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2015. **Taxa de Fecundidade Total – Brasil – 2000 a 2015**. Disponível em: <https://brasilemsintese.ibge.gov.br/populacao/taxas-de-fecundidade-total>. Acesso em: 26 abr. 2023.

BAYER. Pesquisa Nacional sobre Anticoncepção. 2016. Disponível em: <https://www.bayer.com.br/pt/2-pesquisa-nacional-sobre-anticonceppao.pdf> . Acesso em: 26 abr. 2023.

Pompermaier, C.; ZANELLA, G. Z.; PALUDO, E. **Efeitos Colaterais Do Uso Dos Contraceptivos Hormonais Oraais: Uma Revisão Integrativa** . Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Xanxerê, [S. I.], v. 6, p. e27975, 2021. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/apeux/article/view/27975>. Acesso em: 19 jun. 2023.

Casey, FE. **Métodos hormonais de contracepção**. Manual MSD – Versão saúde para a família(2023) Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-br/casa/problemas-de-sa%C3%BAde-feminina/planejamento-familiar/m%C3%A9todos-hormonais-de-contracep%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em 22 de abril de 2024).

Shukla, A., Jamwal, R., & Bala, K. (2016). **Adverse effect of combined oral contraceptive pills**. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 10(1), 1-5. Acesso em: 27 abril de 2023.

Roe, A. H., Bartz, D. A., & Douglas, P. S. (2023). **Contraceção combinada de estrogênio-progestina: Efeitos colaterais e preocupações com a saúde**. UpToDate. Acesso em 20 de maio de 2024. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/combined-estrogen-progestin-contraception-side-effects-and-health-concerns>.

Sousa, A. K. A. D.; PINTO, K. K. D. A.; APARECIDO, L. G.; SILVA, T. R. D.; JÚNIOR, W. L. A. **Contexto histórico dos anticoncepcionais hormonais e seus efeitos colaterais no organismo feminino: uma revisão bibliográfica 2021**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Centro Universitário Una, Bom Despacho, 2021. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/bitstream/ANIMA/19296/1/TCC>

Ferreira, L. F.; D'AVILA, A. M. F. C.; SAFATLE, G. C. B. **O uso da pílula anticoncepcional e as alterações das principais vias metabólicas**. Femina, v. 47, n. 7, p. 426-32, 2019. Disponível em: . Acesso em: 15 de junho de 2023.

Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) **Results Global Health Data Exchange website: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)**, Seattle, WA, 2019. Acessado em 19 de jun de 2023.

Chappell BT, Griffin BL, Howard B. **Mecanismos de ação de produtos contraceptivos não hormonais controlados pela mulher, administrados por via vaginal atualmente disponíveis**. Ther Adv Reprod Saúde. 2022 7 jul;16:26334941221107120. DOI: 10.1177/26334941221107120. PMID: 35832437; PMCID: PMC9272165. Acesso em 01 de maio de 2024.

Momeni1comma, Z., Dehghani, A., , P., Fallahzadeh, H., Student, M., Dafei, M., & Mohammadi, M. (2019). **Effects of low-dose contraceptive pills on the risk factors of cardiovascular diseases among 15-35-year-old women: A**

retrospective cohort. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 17, 841 - 850. <https://doi.org/10.18502/ijrm.v17i10.5496>. Acesso em 01 de maio de 2024.

Moradinazar, M., Marzbani, B., Shahebrahimi, K., Shahabadi, S., Marzbani, B., & Moradinazar, Z. (2019). **Hormone Therapy and Factors Affecting Fertility of Women Under 50-Year-Old with Breast Cancer.** *Breast Cancer : Targets and Therapy*. 11, 309 - 319. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S218394>. Acesso em 01 de maio de 2024.

Hillier, S. L.; MOENCH, T.; SHATTOCK, R.; BLACK, R.; REICHELDERFER, P.; VERONESE, F. **The Story of Nonoxynol 9.** *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* DOI: 10.1097/01.qai.0000159671.25950.74. Acesso em 23 de abril de 2024.

National Center for Biotechnology Information (2024). **PubChem Annotation Record for , Nonoxynol-9, Source: Hazardous Substances Data Bank (HSDB).** Acesso em 20 de maio de 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

Mukanga, B., Mwila, N., Nyirenda, H.T. et al. **Perspectives on the side effects of hormonal contraceptives among women of reproductive age in Kitwe district of Zambia: a qualitative explorative study.** *BMC Women's Health* 23, 436 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12905-023-02561-3>. Acesso em 20 de abril de 2024.

Santos MB, CAIRES CS. **Risco do uso de contraceptivos orais e de emergência.** v. 1 n. 1 (2021): *Revista Científica Unilago*. RISCO DO USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS E DE EMERGÊNCIA|Disponível em: <https://revistas.unilago.edu.br/index.php/revista-cientifica/article/view/584>. Acesso em 20 de abril de 2024.

Pallardo, L.F., Cano, A., Cristobal, I., Blanco, M.A., Lozano, M., & Lete, I. (2012). **Hormonal contraception and Diabetes.** *Clinical Medicine Insights: Women's Health*, 5, 53-63. doi: 10.4137/CMWH.S9934. Acesso em 20 de abril de 2024.

BRITO, M. B.; NOBRE, F.; VIEIRA, C. S. **Contracepção hormonal e sistema cardiovascular**. Arq. Bras. Cardiol., São Paulo, v. 96, n. 4, Abr. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2011005000022>. Acesso em: 11 de maio de 2024.

Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, et al. **PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation**. Ann Intern Med. 2018;169:467–73. <https://doi.org/10.7326/M18-0850>. Acesso em 11 de maio de 2024.

Peters, M., Marnie, C., Tricco, A., Pollock, D., Munn, Z., Alexander, L., McInerney, P., Godfrey, C., & Khalil, H. (2020). **Orientação metodológica atualizada para a realização de revisões de escopo**. JBI Síntese de Evidências, 18, 2119 - 2126. <https://doi.org/10.11124/JBIES-20-00167>. Acesso em 6 de abril de 2024.

Skovlund CW, Mørch LS, Kessing LV, Lange T e Lidegaard O (2018). Associação de contracepção hormonal com tentativas de suicídio e suicídios. American Journal of Psychiatry, 175 (4), 336–342. doi: 10.1176/appi.ajp.2017.17060616.

Haddaway, N. R., Page, M. J., Pritchard, C. C., & McGuinness, L. A. (2022). **PRISMA 2020: Um pacote R e aplicativo Shiny para produzir fluxo compatível com PRISMA 2020 diagramas, com interatividade para transparência digital otimizada e Open Synthesis**. Campbell Systematic Reviews, 18, e1230. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cl2.1230>.

Joanna Briggs Institute. **Methodology for JBI Scoping Reviews Australia: JBI [Internet]**. 2015. Disponível em: <https://jbi.global-wiki.refined.site/space/MANUAL/4687342/Chapter+11%3A+Scoping+reviews>. Acessado em 18 de maio de 2024.

JUNG, S. J.; CHO, S. M. J.; KIM, H. C. **Association of oral contraceptive use with suicidal behavior among representative Korean population: Results from Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2007–2016)**. Journal of Affective Disorders, [s. l.], v. 243, p. 8–15, 2019.

LO FARO, V.; JOHANSSON, T.; JOHANSSON, Å. **The risk of venous thromboembolism in oral contraceptive users: the role of genetic factors—a prospective cohort study of 240,000 women in the UK Biobank.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, [s. l.], v. 230, n. 3, p. 360.e1-360.e13, 2024.

Lai, P. H., Chen, W., Hsu, C. Y., Wang, J. H., & Ding, D. C. **Women consuming oral contraceptives containing cyproterone acetate and ethinylestradiol show pharmacological a higher risk of thyroid cancer than nonusers.** *Medicine*, [s. l.], v. 102, n. 24, p. e34074, 2023.

Venter G, van der Berg CL, van der Westhuizen FH, Erasmus E. **Health Status Is Affected, and Phase I/II Biotransformation Activity Altered in Young Women Using Oral Contraceptives Containing Drospirenone/Ethinyl Estradiol.** *International Journal of Environmental Research and Public Health*, [s. l.], v. 18, n. 20, p. 10607, 2021.

Tchaikovski SN, Thomassen MCLGD, Stickeler E, Bremme K, Rosing J. **Resistance to activated protein C and impaired TFPI activity in women with previous hormone-induced venous thromboembolism.** *Thrombosis Research*, [s. l.], v. 207, p. 143–149, 2021.

Loopik DL, IntHout J, Melchers WJG, Massuger LFAG, Bekkers RLM, Siebers AG. **Oral contraceptive and intrauterine device use and the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade III or worse: a population-based study.** *European Journal of Cancer*, [s. l.], v. 124, p. 102–109, 2020.

Moreira IFA, Bianchini MP, Moreira GRC, Almeida AM, Rezende BA. **Sexual function and metabolic/hormonal changes in women using long-term hormonal and non-hormonal contraceptives: a pilot study.** *BMC Women's Health*, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 240, 2020.

Anderl C, de Wit AE, Giltay EJ, Oldehinkel AJ, Chen FS. **Association between adolescent oral contraceptive use and future major depressive disorder: a**

prospective cohort study. Journal of Child Psychology and Psychiatry, v. 63, n. 3, p. 333-341, 2022.

Hidalgo-Lopez E, Engman J, Poromaa IS, Gingnell M, Pletzer B. **Triple network model of brain connectivity changes related to adverse mood effects in an oral contraceptive placebo-controlled trial.** Translational Psychiatry, v. 13, n. 1, p. 209, 2023.

Edwards, A. C., Lönn, S. L., Crump, C., Mościcki, E. K., Sundquist, J., Kendler, K. S., & Sundquist, K. **Oral contraceptive use and risk of suicidal behavior among young women.** Psychological medicine, v. 52, n. 9, p. 1710-1717, 2022.

Pahnke, R., Mau-Moeller, A., Junge, M., Wendt, J., Weymar, M., Hamm, A. O., & Lischke, A. **Oral contraceptives impair complex emotion recognition in healthy women.** Frontiers in neuroscience, v. 12, p. 423024, 2019.

Agrawal, S., Sood, S., Chopra, K., Singh, A., Gupta, A., Singh, S., & Puri, M. **Insights from client experience with injection medroxyprogesterone acetate (MPA) in India: lessons from the field.** The Journal of Obstetrics and Gynecology of India, v. 72, n. Suppl 1, p. 262-266, 2022.

Shiferaw M, Kassahun W, Zawdie B. **Anthropometric indices, blood pressure, and lipid profile status among women using progestin-only contraceptives: comparative cross-sectional study.** BMC Women's Health, v. 21, p. 1-9, 2021.

Shakya Shrestha S , Shrestha R , Shrestha S , Koju P , Shrestha A. **Hormonal Contraceptives Use and Their Adverse Effects: A Cross-Sectional Study among the Women Visiting Tertiary Care Center.** Kathmandu Univ Med J, v. 71, n. 3, p. 296-302, 2020.

Prachi S, Jitender S, Rahul C, Jitendra K, Priyanka M, Disha S. **Impact of oral contraceptives on periodontal health.** Afr Health Sci. 2019;19(1):1795-1800. doi:10.4314/ahs.v19i1.56

Gatea, E. A.; Kbyeh, F. R.; Jasim, H. M. **Influence of the Combined Oral and Injectable Contraceptives on the Level of Creatinine, Urea, and Some Electrolyte**¹. *Journal of Global Pharma Technology*, v. 11, n. 9, p. 144-147, dez. 2019.

KRYSIAK, R.; KOWALCZE, K.; OKOPIEŃ, B. **Cardiometabolic Effects of Cabergoline and Combined Oral Contraceptive Pills in Young Women with Hyperprolactinemia: A Pilot Study**. *Journal of Clinical Medicine*, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 3208, 2023.

Schink T, Princk C, Braitmaier M, Haug U. **Use of combined oral contraceptives and risk of venous thromboembolism in young women: a nested case-control analysis using German claims data**. *BJOG*. 2022;129(13):2107-2116. doi:10.1111/1471-0528.17268

Baró-Mariné, F., Pijuan-Domènech, A., Goya, M. del M., Suárez-Edo, E., Miranda-Barrio, B., Dos-Subirà, L., Carreras-Moratonas, E. **Progestogen only contraception in women with congenital heart disease**. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 44(1). <https://doi.org/10.1080/01443615.2024.2320296>. 2024

El Sharif, N., & Khatib, I. (2021). **Reproductive factors and breast cancer risk in Palestine: A case control study**. *Cancer epidemiology*, 74, 102019. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2021.102019>

Li Z, Wei H, Li S, Wu P, Mao X. **The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer**. *Drug Des Devel Ther*. 2022;16:305-314. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S336643>

Nunnery SE, Mayer IA. **Targeting the PI3K/AKT/mTOR Pathway in Hormone-Positive Breast Cancer**. *Drugs*. 2020 Nov;80(16):1685-1697. doi: 10.1007/s40265-020-01394-w. PMID: 32894420; PMCID: PMC7572750.

JUNG, Sun Jae; CHO, So Mi J.; KIM, Hyeon Chang. **Association of oral contraceptive use with suicidal behavior among representative Korean**

population: Results from Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2007–2016). *Journal of affective disorders*, v. 243, p. 8-15, 2019.

Prachi, S., Jitender, S., Rahul, C., Jitendra, K., Priyanka, M., & Disha, S. **Impact of oral contraceptives on periodontal health.** *African health sciences*, v. 19, n. 1, p. 1795-1800, 2019.

García Cano, A. M., Rosillo, M., Gómez Lozano, A., Jiménez Mendiguchía, L., Marchán Pinedo, M., Rodríguez Torres, A., & Araujo-Castro, M. (2024). **Pharmacological hyperprolactinemia: a retrospective analysis of 501 hyperprolactinemia cases in primary care setting.** *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 397(5), 3239–3246. <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02803-z>

Fruzzetti, F., Cagnacci, A., Boolell, M., Di Carlo, C., & Bruni, V. (2024). **Is the multinational, surveillance PRO-E2 study informative for all countries? The Italian data on VTE and contraceptive effectiveness.** *The European journal of contraception & reproductive health care : the official journal of the European Society of Contraception*, 29(1), 1–7.

Hofmeyr, G. J., Singata-Madliki, M., Batting, J., Balakrishna, Y., & Morroni, C. (2024). **Effects of depot medroxyprogesterone acetate, the copper IUD and the levonorgestrel implant on testosterone, sex hormone binding globulin and free testosterone levels: ancillary study of the ECHO randomized clinical trial.** *BMC women's health*, 24(1), 167. <https://doi.org/10.1186/s12905-024-02990-8>.

Oliveira, E. C. F., Baêta, T., Cotta, R. C. F., & Rocha, A. L. L. (2023). **Use of 52-mg Levonorgestrel-Releasing Intrauterine System in Adolescents and Young Adult Women: 3-Year Follow-Up.** *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 36(1), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2022.09.001>

Lundin, C., Wikman, A., Wikman, P., Kallner, H. K., Sundström-Poromaa, I., & Skoglund, C. (2023). **Hormonal Contraceptive Use and Risk of Depression Among Young Women With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder.** *Journal of*

the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, 62(6), 665–674. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2022.07.847>

LAI, R. **“Every Medicine Is Somewhat Poisonous”**: Understanding the reluctance to use oral contraceptives among unmarried women seeking abortion in China. *Contraception*, [s. l.], v. 119, p. 109917, 2023.

Hidalgo-Lopez, E., Engman, J., Poromaa, I. S., Gingnell, M., & Pletzer, B. (2023). **Triple network model of brain connectivity changes related to adverse mood effects in an oral contraceptive placebo-controlled trial**. *Translational psychiatry*, 13(1), 209. <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02470-x>

He, B., Iovieno, A., Etminan, M., Kezouh, A., & Yeung, S. N. (2022). **Effects of hormonal contraceptives on dry eye disease: a population-based study**. *Eye (London, England)*, 36(3), 634–638. <https://doi.org/10.1038/s41433-021-01517-x>

Schink, T., Princk, C., Braitmaier, M., & Haug, U. (2022). **Use of combined oral contraceptives and risk of venous thromboembolism in young women: a nested case-control analysis using German claims data**. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, 129(13), 2107–2116. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.17268>

Bezerra, A. G., Pires, G. N., Andersen, M. L., Tufik, S., & Hachul, H. (2023). **The Effects of Hormonal Contraceptives on the Sleep of Women of Reproductive Age**. *Sleep medicine clinics*, 18(4), 435–448. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2023.06.005>.

Lai, SW., Liu, CS. & Hwang, BF. **Association between the use of hormonal contraceptives and risk of gallstone disease**. *Eur J Clin Pharmacol* 78, 307–308 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00228-021-03228-4>

Ekenros, L., von Rosen, P., Solli, G. S., Sandbakk, Ø., Holmberg, H. C., Hirschberg, A. L., & Fridén, C. (2022). **Perceived impact of the menstrual cycle and hormonal contraceptives on physical exercise and performance in 1,086 athletes from 57**

sports. Frontiers in physiology, 13, 954760. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.954760>

Guo, M. Y., Sodhi, M., Khosrow-Khavar, F., & Etminan, M. (2021). **Risk of sexual dysfunction with progestin-based contraceptives in women of child-bearing age.** European journal of clinical pharmacology, 77(1), 133–140. <https://doi.org/10.1007/s00228-020-02983-0>

Correia, P., Machado, S., Meyer, I., Amiguet, M., Eskandari, A., & Michel, P. (2021). **Ischemic stroke on hormonal contraceptives: Characteristics, mechanisms and outcome.** European stroke journal, 6(2), 205–212. <https://doi.org/10.1177/23969873211019586>.

de Wit, A. E., Booij, S. H., Giltay, E. J., Joffe, H., Schoevers, R. A., & Oldehinkel, A. J. (2020). **Association of Use of Oral Contraceptives With Depressive Symptoms Among Adolescents and Young Women.** JAMA psychiatry, 77(1), 52–59. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.2838>.

Yasmeen, A., Syed, M. H., Meraya, A. M., Albarraq, A. A., Makeen, H. A., Alqahtani, S. S., Abubaker, M., & Syed, N. K. A. (2020). **Utilization pattern and side effect profile of oral anticonceptives: A community-based cross-sectional study among Saudi women.** International journal of clinical pharmacy, 42(3), 887–894. <https://doi.org/10.1007/s11096-020-01046-9>

Sufa, B., Abebe, G., & Cheneke, W. (2019). **Dyslipidemia and associated factors among women using hormonal contraceptives in Harar town, Eastern Ethiopia.** BMC research notes, 12(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4148-9>

Bosak, M., Cyranka, K., & Slowik, A. (2019). **Hormonal contraception in patients with epilepsy.** Ginekologia polska, 90(2), 61–65. <https://doi.org/10.5603/GP.2019.0010>

Gabrielson, M., Chiesa, F., Behmer, C. *et al.* **Associação da história reprodutiva com características do tecido mamário e status do receptor na mama normal.**

Breast Cancer Res Treat **170**, 487–497 (2018).
<https://doi.org/10.1007/s10549-018-4768-0>