

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina: Programa de Pós Graduação em Saúde da Mulher

Ana Carolina Xavier Goulart

**EFEITOS DO GEL INTRAVAGINAL DE POLICARBOFILA NA QUALIDADE
DOS ESPERMATOZOIDES**

Belo Horizonte

2022

ANA CAROLINA XAVIER GOULART

**EFEITOS DO GEL INTRAVAGINAL DE POLICARBOFILA NA QUALIDADE
DOS ESPERMATOZOIDES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Reprodução Humana e Patologia Ginecológica.

Orientador: Prof. Dr. Selmo Geber

Co-Orientador: Prof. Dr. Fernando Reis

Belo Horizonte

2022

G694e Goulart, Ana Carolina Xavier.
Efeitos do gel intravaginal de policarbofila na qualidade dos espermatozoides [recursos eletrônicos]. / Ana Carolina Xavier Goulart----- Belo Horizonte 2022.
53f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Selmo Geber.
Coorientador (a): Fernando Reis.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Infertilidade. 2. Análise do Sêmen. 3. Administração Intravaginal... 4. Dissertação Acadêmica. I. Geber, Selmo. II. Reis, Fernando. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WP 250

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CENTRO DE PÓS GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA/ ANA CAROLINA XAVIER GOULART

Realizou-se, no dia 27 de outubro de 2022, às 08:00 horas, Faculdade de Medicina UFMG, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *EFEITOS DO GEL INTRAVAGINAL DE POLICARBOFILA NA QUALIDADE DOS ESPERMATOZOIDES*, apresentada por ANA CAROLINA XAVIER GOULART, número de registro 2020660967, graduada no curso de BIOMEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Fernando Marcos dos Reis - Orientador (UFMG), Prof(a). Simone Franca Nery (Hospital das Clínicas da UFMG), Prof(a). Eduardo Siqueira Fernandes (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada eletronicamente por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 27 de outubro de 2022.

Prof(a). Fernando Marcos dos Reis (Doutor)

Prof(a). Simone Franca Nery (Doutora)

Prof(a). Eduardo Siqueira Fernandes (Doutor)



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Marcos dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 03/11/2022, às 17:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Siqueira Fernandes, Usuário Externo**, em 03/11/2022, às 19:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Simone Franca Nery, Médica**, em 08/11/2022, às 09:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1875245** e o código CRC **754387DD**.

AGRADECIMENTO

Como gostaria de ter tido a oportunidade de agradecer ainda em vida o meu orientador, que não somente me orientou em um projeto de dissertação, mas me direcionou, me acolheu e me incentivou de diversas formas a percorrer meu caminho profissional. Profícuo pesquisador, professor e médico, deixa em seus alunos pequena parte de seu amplo conhecimento e do seu entusiasmo na área da pesquisa. Deixo aqui a minha sincera gratidão a Selmo Geber.

À clínica Origen, deixo registrado o meu agradecimento por ter aberto as portas mesmo em um momento difícil como a pandemia do COVID-19, sempre dando suporte e incentivo. Hoje tenho muito orgulho de fazer parte da equipe de embriologistas em um lugar que é referencia para muitos.

Gostaria de agradecer também aos meus pais pela base sólida, confiança, amparo e exemplo de trabalho e honestidade. Ao meu namorado Breno e às minhas amigas pelos momentos de distração. Às minhas colegas de profissão que me ensinam e me apoiam diariamente, Renata, Débora, Patrícia e Rafaela, e por último e não menos importante ao meu Co-orientador Fernando Reis, meu primeiro professor na pós graduação que agora assiste aos meus últimos passos. Obrigada pelo acolhimento, ensinamentos, e, sobretudo pela paciência.

Hoje novas portas se abrem, e com elas novos desafios a serem percorridos, sempre com muita dedicação, amor à profissão, confiança na ciência e na educação. Espero um dia poder contribuir com a comunidade compartilhando todo meu conhecimento.

RESUMO

A falta de lubrificação vaginal adequada é duas vezes mais prevalente em mulheres em processo de tratamento para engravidar quando comparados à população geral. Na tentativa de controlar o ressecamento, é comum a utilização de lubrificantes e hidratantes vaginais. Uma das alternativas é o uso do gel intravaginal não hormonal de poliacarbofila. Entretanto, os possíveis efeitos desse gel sobre a qualidade dos espermatozoides não estão bem estabelecidos.

O presente estudo tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos do gel de poliacarbofila na qualidade espermática *in vitro*. Alíquotas seminais (n = 166) foram incubadas a 34°C por 24 horas na proporção volumétrica 1:1 com gel de poliacarbofila pré-diluído a 20% em meio de cultivo ou somente com meio, também na proporção 1:1. Análises seminais foram feitas em diferentes tempos (0, 15 e 30 min e 24h), para avaliar concentração, motilidade, e vitalidade dos espermatozoides após o contato com o gel.

A contagem de espermatozoides diminuiu após a diluição de uma mediana de 50×10^6 /mL em amostras frescas, para 38×10^6 /mL após incubação com meio de cultivo e para 36×10^6 /mL após incubação com gel de poliacarbofila ($p < 0,0001$). A proporção de motilidade progressiva dos espermatozoides também diminuiu de uma mediana de 52% em amostras frescas, para 11%, após 24h de incubação com meio de cultura e para 0% após 24h de incubação com gel ($p < 0,0001$).

A motilidade espermática reduziu imediatamente após o contato com gel e ao longo do experimento, contrastando com a incubação com meio de cultura, que afetou a motilidade espermática somente após 24h. A vitalidade analisada após 24h de incubação diferiu entre os tratamentos, com mediana de 62,5% com a exposição ao meio de cultura e 47% com o gel de poliacarbofila ($p = 0,020$). Concluimos que a utilização do gel de poliacarbofila pode ser prejudicial à qualidade espermática, e por isso não deve ser recomendado a casais em tratamento de infertilidade.

Palavras-chave: gel de poliacarbofila; ressecamento vaginal; infertilidade; análise seminal.

ABSTRACT

The lack of adequate vaginal lubrication is twice as prevalent in infertile women undergoing treatment to become pregnant when compared to the general population. In an attempt to control dryness, it is common to use lubricants and vaginal moisturizers. One of the alternatives is the use of non-hormonal polycarbophil intravaginal gel. However, the possible effects of this gel on sperm quality are not well established.

The present study aims to evaluate the possible effects of intravaginal polycarbophil gel on sperm quality *in vitro*. Aliquots of semen samples (n = 166) were incubated at 34°C for 24 hours in a 1:1 ratio with polycarbophil gel prediluted to 20% in a culture medium or only with the culture medium, also in a 1:1 ratio. Seminal analyzes were performed at different times (0, 15, 30 min and 24h) to determine concentration, motility, and vitality of the sperm in the sample after contact with the gel.

Sperm counts decreased from a median of 50×10^6 /mL in fresh samples to 38×10^6 /mL after incubation with culture medium and to 36×10^6 /mL after incubation with polycarbophil gel ($p < 0,0001$). The proportion of progressive sperm motility decreased from a median of 52% in fresh samples to 11% after 24h of incubation with culture medium and 0% after 24h of incubation with gel ($p < 0,0001$).

Sperm motility reduced immediately after contact of the seminal sample with gel and throughout the experiment, in contrast to incubation with culture medium, which affected sperm motility only after 24h. The vitality analyzed after 24h of incubation differed between treatments, with a median of 62.5% with exposure to the culture medium and 47% with the polycarbophil gel ($p = 0,020$). We conclude that the use of polycarbophil gel can be harmful to sperm quality, and therefore it should not be recommended to couples undergoing infertility treatment.

Key-words: polycarbophil gel; vaginal dryness; infertility; seminal analysis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IU- Inseminação intrauterina

CP- Coito programado

TCLE- Termo de consentimento livre e esclarecido

UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais

OMS- Organização Mundial da Saúde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma metodologia.....	26
Figura 2: Aferição do PH do grupo controle e do grupo do estudo utilizando fita universal.....	29
Figura 3: Teste de vitalidade realizado no grupo controle e grupo do estudo (coorte 2).....	30
Figura 4: Contagem de espermatozoides (A) e motilidade (B) em amostras seminais de 152 participantes (coorte 1).....	33
Figura 5: Evolução temporal da contagem de espermatozoides (A) e motilidade (B) em amostras seminais de 14 participantes (coorte 2).....	34
Figura 6: Vitalidade espermática em amostras seminais de 14 participantes (coorte 2).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de normalidade seminal segundo a OMS (2010).	27
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.0 Fisiologia da lubrificação vaginal.....	13
1.1 Ressecamento vaginal.....	11
1.2 Tratamento de baixa complexidade para infertilidade.....	14
1.3 Lubrificantes e hidratantes vaginais.....	15
1.3.1 Lubrificantes pessoais.....	16
1.3.2 Hidratantes vaginais.....	17
1.3.3 Hidratantes à base de policarbofila.....	17
1.4 Estudos Anteriores.....	18
2 OBJETIVOS	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Coleta e processamento das amostras.....	27
3.2 Análise inicial das amostras.....	27
3.3 Experimentos.....	28
3.4 Diluição do gel.....	28
3.4.2 Grupo do estudo.....	28
3.4.3 Grupo controle.....	28
3.5 Análises de concentração e motilidade.....	28
3.6 Teste de vitalidade.....	29
3.7 Análise Estatística.....	31
4 RESULTADOS	32
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	42
7 ANEXOS	44
REFERÊNCIAS	52

INTRODUÇÃO

1.0 Fisiologia da lubrificação vaginal

A mucosa vaginal de mulheres em idade reprodutiva normalmente é um ambiente úmido, e essa umidade tende a aumentar durante a excitação sexual (MESEN, 2014). A excitação inicial estimula a liberação de óxido nítrico e peptídeos vasoativos resultando no aumento de fluxo sanguíneo para vagina, clítoris e grandes lábios. A vasocongestão localizada gera uma pressão, forçando o plasma para fora dos capilares e para o espaço intersticial. O fluido intersticial difunde-se através do epitélio formando gotículas na mucosa vaginal, e gera uma película lubrificante que reveste a vagina (MESEN, 2014).

1.1 Ressecamento vaginal

O ressecamento vaginal afeta mais da metade das mulheres da população mundial na pós-menopausa. Isso ocorre principalmente devido às mudanças na regulação hormonal, mais especificamente ligadas à redução do nível de estrogênio. O impacto da falta de lubrificação vaginal pode ser significativo nas relações interpessoais, qualidade de vida, atividades cotidianas e função sexual, mas é frequentemente subestimado (POTTER, PANAY, 2020; EDWARDS, PANAY, 2015). Aproximadamente 17% das mulheres entre 17 e 51 anos apresentam esta queixa (GONCHARENKO *et al.*, 2019).

Além das alterações hormonais, fatores como desidratação, uso de medicamentos antidepressivos, antiestrogênicos, fármacos utilizados no tratamento do câncer, menopausa, amamentação, condições como diabetes, doença inflamatória intestinal, insuficiência cardíaca crônica, esclerose múltipla, fatores psicológicos, estresse e vasoconstrição excessiva podem estar relacionados à falta de lubrificação vaginal durante o ato sexual, trazendo desconforto, dor, ansiedade, falta de desejo e problemas para o casal (POTTER, PANAY, 2020; GONCHARENKO *et al.*, 2019; EDWARDS, PANAY, 2015).

Existe uma forte associação entre a falta de lubrificação natural e a dispareunia. Estima-se que o problema afete cerca de metade de todas as mulheres em algum momento de suas vidas e que, apesar da disponibilidade de várias opções de tratamento, a subnotificação e o subtratamento do ressecamento vaginal são comuns e apenas uma minoria de mulheres procura ajuda médica (EDWARDS, PANAY, 2015).

O ressecamento vaginal é comumente relatado por casais em tratamento de infertilidade. Essa queixa pode ser explicada pelo fato das relações sexuais ocorrerem em dias consecutivos e programados, pela obrigatoriedade do coito, pelo estresse, medo de insucesso e/ou pelo uso de medicamentos específicos ao tratamento (PARK *et al.*, 2014; MOWAT *et al.*, 2014).

1.2 Tratamento de baixa complexidade para infertilidade

A infertilidade conjugal pode afetar até 15% dos casais e na investigação básica da população infértil é possível selecionar casais que possam ser beneficiados por técnicas de baixa complexidade como, por exemplo, Inseminação intrauterina (IIU) e Coito programado (CP). Esses procedimentos são executados de forma relativamente simples, com segurança e baixo custo (JUNIOR, GIACOBBE, MONTELEONE; 2018).

A indução da ovulação está associada a técnicas que podem aumentar de forma significativa as chances de gravidez quando comparadas às de ciclos naturais. O tratamento induz e controla o crescimento folicular juntamente com o desenvolvimento endometrial durante as fases proliferativa e secretora do ciclo menstrual, proporcionando maior número de oócitos maduros liberados na janela de fertilidade (JUNIOR, GIACOBBE, MONTELEONE; 2018).

O início da estimulação ovariana acontece normalmente no 2º dia do ciclo menstrual e é feito a partir de fármacos específicos para o tratamento. Citrato de Clomifeno, Letrozol e Gonadotrofinas são alguns exemplos de medicamentos utilizados nos protocolos de indução. A monitorização da ovulação e do crescimento folicular é feita a partir da ultrassonografia

transvaginal e da dosagem de estradiol (JUNIOR, GIACOBBE, MONTELEONE, 2018).

Durante a indução da ovulação, quando os folículos atingem 18 mm é realizada a maturação final, que pode ser feita com o gatilho de hCG. Em ciclos naturais, a maturação folicular deve ser monitorada por ultrassonografia ou pela dosagem do hormônio LH. No CP as relações sexuais devem ocorrer entre 12 e 48 horas após o pico de LH ou administração de hCG (JUNIOR, GIACOBBE, MONTELEONE; 2018).

Estudos anteriores demonstraram que durante as relações sexuais programadas, casais que querem engravidar possuem falta de lubrificação duas vezes maior quando comparados à população no geral e, na tentativa de controlar o ressecamento, é comum a utilização de lubrificantes e hidratantes. Uma pesquisa revela que a intimidade sexual pode ser afetada negativamente devido ao ressecamento vaginal, sendo que a queixa ocorre constantemente em 11% dos casais tentantes, frequentemente em 35% e ocasionalmente em 42% dos mesmos (PARK *et al.*, 2014; SANDHU *et al.*, 2014).

1.3 Lubrificantes e hidratantes vaginais

Lubrificantes e hidratantes íntimos são eficazes para aliviar o desconforto e a dor causada durante as relações sexuais para mulheres com queixa de ressecamento vaginal leve a moderado, particularmente aquelas que têm uma contraindicação ao uso de estrogênio, ou que optam por não usar hormônios. No entanto, há uma distinção entre lubrificantes e hidratantes, e diferenças notáveis entre os produtos disponíveis comercialmente (EDWARDS, PANAY, 2015).

Tanto os lubrificantes como os hidratantes contêm uma grande variedade de excipientes e ingredientes que podem afetar a osmolaridade e o Ph. Além disso, outros componentes adicionais individuais como parabenos, conservantes e glicóis podem gerar consequências biológicas negativas tornando-os menos adequados para alguns pacientes, como, aqueles em tratamento para infertilidade. Alguns efeitos colaterais como dano espermático,

dano tecidual e irritação podem estar co-relacionados a adição desses componentes (POTTER, PANAY, 2020).

1.3.1 Lubrificantes pessoais

Os lubrificantes são utilizados para deixar a relação sexual mais confortável, diminuindo a fricção e atrito causado pela falta da lubrificação natural (MACKENZIE, GELLATLY, 2019). Estes podem ser divididos em dois principais grupos: hormonais e não hormonais.

Os lubrificantes hormonais são terapias baseadas na administração tópica de estrogênio. São eficazes, porém contra indicados em alguns casos como sangramento vaginal, uterino e câncer de endométrio e mama (VALE, 2019). Além disso, a administração de estrogênio pode interferir negativamente no tratamento da infertilidade de casais tentantes, devido às alterações na foliculogênese, já que o estrogênio é um hormônio com papel importante durante a fase proliferativa do ciclo (VON HOFER, BATES, 2015). Lubrificantes não hormonais são subdivididos em cinco categorias: à base de petróleo, óleos naturais, contendo glicerina à base de água, à base de água livre de glicerina e lubrificantes de silicone (MESEN, STEINER, 2014).

Uma grande variedade de lubrificantes pessoais está disponível comercialmente. São aplicados à vagina, vulva e ao pênis do parceiro, se necessário antes da relação sexual. Lubrificantes agem rapidamente para fornecer alívio em curto prazo da dor relacionada ao ressecamento vaginal durante o sexo. São particularmente benéficos para mulheres cujo ressecamento vaginal é uma preocupação apenas ou principalmente durante o ato sexual (EDWARDS, PANAY, 2015).

Mesen e Steiner (2014) avaliaram 2056 mulheres com idade entre 18 e 60 anos e demonstraram que 62% delas já haviam utilizado lubrificante vaginal pelo menos uma vez e que 25,3% haviam usado no mês anterior ao estudo. Quando questionadas sobre o motivo da utilização, 70,9% responderam que tornou o sexo mais prazeroso, 53,9% declararam que não tinham lubrificação natural suficiente e 24,8% relatam que o sexo era desconfortável sem o uso de lubrificantes.

Estima-se que, nos Estados Unidos, lubrificantes pessoais movimentam um mercado de US \$219 milhões por ano (MESEN, STEINER, 2014). Além disso, um em cada quatro casais tentando engravidar utiliza o produto durante as relações sexuais e 62% das mulheres na população americana tem o mesmo hábito (PARK *et al.*, 2014; SAMARASINGHE *et al.*, 2018).

1.3.2 Hidratantes vaginais

A grande maioria dos hidratantes vaginais contém água para melhor adesão e polímeros à base de plantas ou sintéticos, além de uma ampla gama de outros excipientes para fornecer a viscosidade adequada e tampão de pH. São absorvidos e aderem ao revestimento vaginal, imitando secreções vaginais naturais hidratando a mucosa (EDWARDS; PANAY, 2015).

Destinam-se a ser usados para o alívio não hormonal do ressecamento vaginal/ vaginite atrófica/ atrofia vaginal e são aplicados regularmente, a cada 2 a 3 dias. Sua frequência de uso é diretamente proporcional à gravidade da atrofia, e seus efeitos são mais longos do que os de lubrificantes, com duração de 2 a 3 dias. Hidratantes vaginais proporcionam esse alívio mais longo alterando o teor de fluidos do endotélio e diminuindo o pH vaginal mantendo assim a umidade vaginal e a acidez. São, portanto, benéficos não apenas para mulheres que sentem dor durante a atividade sexual, mas também para mulheres que não são necessariamente sexualmente ativas, mas experimentam desconforto cotidiano (EDWARDS; PANAY, 2015).

1.3.3 Hidratantes à base de policarbofila

Os hidratantes à base de policarbofila são compostos por Policarbofila, butil éster de copolímero de polimetilviniléter/ ácido maleico (copolímero PVM/MA), óleo de palma hidrogenado, solução de lactato de sódio a 50%, carbômer, glicerina, benzoato de sódio, vaselina líquida e água. De acordo com o fabricante, a combinação de três polímeros garante adesão à mucosa, permitindo que o produto não escorra, e o lactato de sódio ajuda na regulação do PH vaginal.

Estudos recentes demonstraram que esse tipo de gel é uma opção terapêutica segura e eficiente para a melhoria da secura vaginal com benefícios encorajadores para a função sexual das mulheres na pós-menopausa mas até o momento nenhum estudo demonstra o potencial de impacto na qualidade espermática e as consequências para casais tentantes (VALE *et al.*, 2019).

1.4 Estudos Anteriores

Os primeiros estudos realizados por Tagatz, Okagaki e Sciarra (1972) mostraram o efeito prejudicial dos lubrificantes para os espermatozoides. Após a incubação de 20 amostras de sêmen com os lubrificantes íntimos KY ou Surgilube por 15 minutos, nenhum espermatozoide móvel ou viável estava presente em 80% das amostras de sêmen. Após 30 minutos de incubação, nenhum espermatozoide viável ou móvel foi encontrado.

Goldenberg, White (1975) testaram 20 amostras seminais com diferentes tipos de lubrificantes. Os lubrificantes foram aplicados revestindo o fundo de tubos de ensaio, a amostra de sêmen foi diluída em solução salina e a motilidade foi avaliada após 15 minutos e 2 horas. Uma solução salina sem adição de lubrificante foi utilizada como grupo controle. Os resultados demonstraram os efeitos negativos dos produtos Surgilube e KY Jelly. Os Óleos vegetais a glicerina e a vaselina apresentaram um ligeiro efeito decrescente sobre a motilidade.

Tulandi, McInnes (1984) avaliaram o sêmen de 15 homens saudáveis e testaram o possível efeito da glicerina e da clara de ovo na qualidade espermática. Alíquotas das amostras seminais foram adicionadas a três tubos, 0,1 ml de glicerina, 0,1 ml de clara de ovo e 0,1 ml de solução salina foram adicionados posteriormente a cada tubo e as análises foram realizadas aos 30 minutos e 1 hora. A glicerina reduziu a motilidade progressiva dos espermatozoides enquanto no grupo controle e na clara de ovo não houve efeito deletério. Para determinar os efeitos prejudiciais da glicerina foram testadas diferentes concentrações (1%, 2%,5% e 10 %). As análises foram realizadas com 15 e 30 minutos e concluiu-se que houve uma diminuição

significativa da motilidade progressiva dos espermatozoides 30 minutos após a incubação com glicerina em concentração $\geq 2\%$.

Frishman et al., (1992) avaliaram o efeito prejudicial dos lubrificantes Astroglide e KY em diferentes concentrações após contato com dez amostras seminais de homens saudáveis. Foram adicionados 0,4 ml do sêmen em mistura com 100%, 50%, 25% e 12,5% de cada lubrificante. Em um tubo foi adicionado somente sêmen e solução fisiológica como grupo controle. Em todas as concentrações houve um comprometimento significativo da motilidade progressiva (exceto K-Y Jelly a 12,5%) a partir do primeiro minuto sem aumento significativo do dano ao longo do tempo.

Anderson, Lewis, McClure (1998) analisaram 16 amostras seminais de homens saudáveis. Os sêmens foram preparados por gradiente de densidade e separados em cinco alíquotas. Foram avaliados os efeitos prejudiciais dos lubrificantes: KY, óleo de bebê J&J, além de azeite de oliva e saliva com a concentração de 12% e 6%. Na quinta alíquota foi adicionado somente meio de cultivo e serviu como grupo controle. As amostras foram incubadas a 37°C, 5% CO₂ e avaliadas com 5, 15 e 30 minutos. Concluiu-se que a motilidade reduziu significativamente após contato com os lubrificantes a 12% com 5 minutos, exceto com o óleo de bebê. Após o contato com os lubrificantes a 6% apenas o azeite de oliva apresentou prejuízos nas taxas de motilidade com 5 minutos enquanto os outros lubrificantes apresentaram alteração somente com 30 minutos.

Agarwal et al (2008) avaliaram amostras seminais de 13 doadores saudáveis com fertilidade comprovada. As amostras foram incubadas durante 30 minutos e 4 horas em meio de cultura com 10% dos lubrificantes: Pre-Seed, FemGlide, Astroglide e Replens. Somente o lubrificante Pre-Seed não apresentou reduções significativas na motilidade espermática após 30 minutos.

Mortimer et al (2013) sugerem que lubrificantes e hidratantes vaginais possuem níveis de osmolaridade de 5 a 10 vezes maior que os níveis aceitáveis para função normal dos espermatozoides e que o PH desse tipo de produto varia normalmente de 4 a 6 e também foge da faixa funcional para os gametas masculinos. Além disso, óleo de bebê, óleo mineral e óleo de canola

podem atuar nos componentes lipofílicos da membrana causando maior permeabilização do plasma espermático alterando a sua função.

Mesen e Steiner (2013) avaliaram os efeitos de lubrificantes vaginais em 296 mulheres sem histórico de infertilidade com idade entre 30 e 44 anos que estavam tentando engravidar. Das 269 mulheres, 25% afirmaram que usavam lubrificantes durante as tentativas de conceber, sendo o lubrificante mais comum usado KY Jelly (44%) seguido por Astroglide (20%). Das 148 mulheres que entraram no estudo 30,4% engravidaram no primeiro ciclo de tentativa, 57,4% conceberam após 3 ciclos e 69,6% conceberam após 6 ciclos. O uso de lubrificantes foi relatado como ocasional em 44% dos usuários, frequentemente em 31% dos usuários. Embora estudos *in vitro* anteriores tenham demonstrado que lubrificantes diminuem a motilidade dos espermatozoides, este estudo sugere que o uso de lubrificante durante a relação sexual não parece ter um efeito negativo sobre a fertilidade natural.

Mowat et al (2014) avaliaram o efeito de 9 lubrificantes na qualidade espermática, (Sylk , Conceive Plus, Glicerol, Johnson's Baby Oil, SAGE Culture Oil, Yes, Forelife , MaybeBaby e Pre-seed.) Um total de 10 amostras seminais foram preparadas por gradiente de densidade e avaliadas após incubação com os produtos citados na concentração de 10% durante 30 minutos a 37° C. Foram comparados entre os nove lubrificantes, os seguintes parâmetros: motilidade, vitalidade e fragmentação do DNA dos espermatozoides. A vitalidade variou de 28% (Forelife) a 92% (Pre-seed). A motilidade variou de 31% (Sylk) a 86% (Pre-seed). Não foram observados efeitos significativos na integridade do DNA.

Park et al (2014) avaliaram os efeitos do lubrificante Inclear 10% em contato com amostras seminais de 22 pacientes. O tempo de incubação de 30 minutos foi escolhido com base em estudos prévios de Settlege e colaboradores em 1973 que sugeriram que a maioria dos espermatozoides migra através do colo do útero dentro de 15 a 30 minutos após a ejaculação. A concentração e motilidade das amostras não foi significativamente diferente do

controle após 0 e 30 minutos. Demonstrando que o lubrificante Inclear não apresentou efeitos adversos sobre a motilidade dos espermatozoides.

Sandhu et al (2014) avaliaram as amostras seminais de 22 homens saudáveis após preparo pela técnica de gradiente de densidade. Os espermatozoides ficaram expostos a uma concentração de 10% dos lubrificantes: Pre-Seed, Astroglide e KY, além de óleos de bebê, canola, gergelim e mostarda. A motilidade total e progressiva dos espermatozoides foi avaliada antes do preparo e após 5, 30 e 60 minutos de incubação. O lubrificante Pré-Seed apresentou uma queda mínima, porém significativa na motilidade progressiva após 30 minutos de incubação e a motilidade total não apresentou declínio. A motilidade total e progressiva dos espermatozoides diminuiu de forma dependente do tempo com a incubação do lubrificante Astroglide e imediatamente com o KY.

Com relação à incubação com óleos, Sandhu et al (2014) perceberam que o óleo de canola produziu queda significativa na motilidade espermática total após 30 minutos e na motilidade espermática progressiva após 5 minutos. O óleo de bebê mostrou uma diminuição leve, mas significativa na motilidade total após 60 minutos, já a motilidade progressiva dos espermatozoides no óleo de bebê diminuiu após 5 minutos e nenhum declínio adicional foi observado. O óleo de gergelim causou um declínio contínuo na motilidade total e progressiva dos espermatozoides ao longo de 60 minutos. A exposição ao óleo de mostarda causou hiperativação persistente dos espermatozoides, sem diminuição da motilidade. O óleo de mostarda contém isotocianato alil, um ativador do canal A1 (TRP), portanto a hiperativação pode ser explicada pela ativação destes canais iônicos. Não houve nenhum declínio significativo ao longo de 60 minutos no grupo controle.

Existe uma preocupação acerca do uso generalizado de parabenos em cosméticos como lubrificantes, devido a evidências de que o composto pode causar desregulação da via estrogênica, alterações na produção de testosterona e conseqüentemente na de espermatozoides. Os estudos de Samarasinghe et al (2018) mostraram que espermatozoides humanos expostos a uma concentração de uma mistura de parabenos e metilparabeno comparados ao grupo controle apresentaram uma alteração negativa dos

parâmetros de motilidade e vitalidade, aumento de radicais livres devido ao estresse oxidativo, após longa exposição e ativação da via de apoptose.

Mackenzie e Gellatly (2019) avaliaram o efeito do Pré Lubrificante Vaginal e Aquagel em 15 amostras seminais preparadas pela técnica de gradiente de densidade, incubados por 0, 10, 30 e 60 minutos. O grupo controle foi incubado durante 0 e 60 minutos apenas em meio de cultura. Os autores concluíram que o Aquagel, determinou uma diminuição na motilidade progressiva dos espermatozoides após 10 minutos, mesmo em concentrações tão baixas quanto 5%. O teste de vitalidade sugeriu que a piora da motilidade progressiva não foi resultado da morte celular.

Casais que desejam engravidar são um importante grupo que utiliza lubrificantes e hidratantes, uma vez que as mulheres apresentam uma elevada taxa de ressecamento vaginal (Mackenzie, Gellatly (2019); Samarasinghe, *et al* (2018); Park *et al* (2014); Sandhu *et al* (2014); Mowat *et al* (2014)). Como até o momento não existe, no nosso entendimento, nenhum estudo que tenha avaliado o efeito do gel de policarbofila, ou qualquer tipo de hidratante vaginal na qualidade espermática, é necessário à realização de estudos sobre o tema.

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar através de um modelo In Vitro os possíveis efeitos do gel intravaginal não hormonal de policarbofila na qualidade espermática em amostras normais de homens em tratamento para infertilidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo prospectivo experimental pareado no período de agosto/2020 até Julho/2022 para avaliar o efeito do gel intravaginal não hormonal de policarbofila na qualidade espermática. Foram incluídas amostras seminais normais doadas por pacientes que estavam em tratamento para infertilidade conjugal em uma clínica privada especializada em reprodução assistida localizada em Belo Horizonte. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG) (CAAE: 20525219.0.0000.5149/ Número do Parecer: 3.744.169), (ANEXO 1). Todos os pacientes leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 2).

Após a primeira avaliação, cada amostra foi dividida em duas alíquotas: grupo de estudo contendo o sêmen e adição do gel de policarbofila já pré-diluído e grupo controle com sêmen e meio de cultura próprio para gametas nas mesmas proporções.

Cada participante doou apenas uma amostra para o estudo. Os primeiros 152 participantes (coorte 1) tiveram seu sêmen examinado antes (amostras frescas) após a incubação com o gel de policarbofila nos intervalos de 0, 15 e 30 minutos e ao final dos experimentos, ou seja, após 24h de incubação in vitro com gel policarbofila e com meio de cultura (controle). Os últimos 14 participantes (coorte 2) tiveram suas amostras analisadas da mesma forma, porém as amostras cultivadas somente com o meio de cultivo também foram avaliadas durante a curva de tempo (0, 15 e 30 min).



Figura 1: Fluxograma metodologia.

3.1 Coleta e processamento das amostras

Todas as amostras de sêmen foram colhidas, por masturbação, em sala adequada, em frasco coletor estéril (J prolab, Brasil) e levadas ao laboratório. Todos os pacientes respeitaram uma abstinência de 2 a 5 dias. Uma hora após a coleta, as amostras de sêmen foram avaliadas de acordo com os parâmetros seminais descritos pela OMS, (2010). Motilidade (progressiva, não progressiva e imóveis), concentração, viscosidade, volume e Ph foram avaliados e registrados.

Tabela 1: Parâmetros de normalidade seminal (Organização Mundial da Saúde, 2010).

Parâmetros espermáticos	Valores normais
Volume	> 1,5 mL
Ph	> 7,2
Cor	Branco opalescente
Liquefação	< 30min, completa
Viscosidade	Normal
Concentração Espermática	> 15x 10 ⁶ /ml
Número total de espermatozoides	> 39x10 ⁶ espermatozoides por ejaculado
Motilidade Progressiva	> 32% de espermatozoides móveis progressivos
Motilidade Total	> 40% de espermatozoides móveis totais
Morfologia	> 4% com formas normais
Vitalidade	> 58% formas vivas

3.2 Análise inicial das amostras

A primeira análise foi realizada com o sêmen fresco após completa liquefação, utilizando-se câmara de Makler (Sefi Medical, Israel) sob microscopia óptica (Nikon, Japão). Um total de 10 ul foi pipetado por micropipeta 10-100 ul (Eppendorf, Alemanha) para avaliação da concentração e motilidade espermática, para aferição do ph utilizamos fita universal (Merk, EUA), e para determinação do volume uma pipeta volumétrica descartável de 5 ou 10ml (Corning, EUA) com auxílio de pipetador automático (Labnet, EUA).

3.3 Experimentos

3.3.1 Diluição do gel

Devido a viscoelasticidade do gel de poliacarbofila a sua diluição foi realizada com auxílio de uma seringa de 1 ml (BD plastipak, EUA). Foram aspirados 20 ul de gel e adicionado ao fundo do frasco de 5 ml (Oosafe- EUA). Em seguida foram adicionados 80 ul de meio de cultivo próprio para gametas (COOK- EUA) aquecido previamente a 37°C em incubadora K-systems (K systems, EUA). O meio com gel foi ressuspendido até completa homogeneização resultando em solução 20%.

3.3.2 Grupo do estudo

Uma alíquota do sêmen foi diluída em um padrão de 1:1 em uma mistura com 20% do gel de poliacarbofila e meio de cultura próprio para gametas em um tubo de 5 ml estéril e próprio para manipulação, livre de DNA e testado para embriotoxicidade. A concentração final do gel a 10% foi determinada por estudos anteriores que revelaram que esta seria a concentração do gel residual presente no canal vaginal após as relações sexuais.

3.3.3 Grupo controle

Outra alíquota foi feita utilizando as mesmas quantidades do mesmo sêmen e mesmo volume do meio de cultivo, porém sem a presença do gel de poliacarbofila.

3.4 Análises de concentração e motilidade

Concentração e motilidade espermáticas foram analisadas utilizando microscópio óptico de luz e câmara de makler. Foram estipuladas as concentrações e motilidade progressiva, não progressiva e imóveis, além da aferição do pH utilizando uma fita universal (FIGURA 1). Durante as análises as

amostras foram armazenadas em uma placa aquecedora a 34°C (Labnet, EUA)

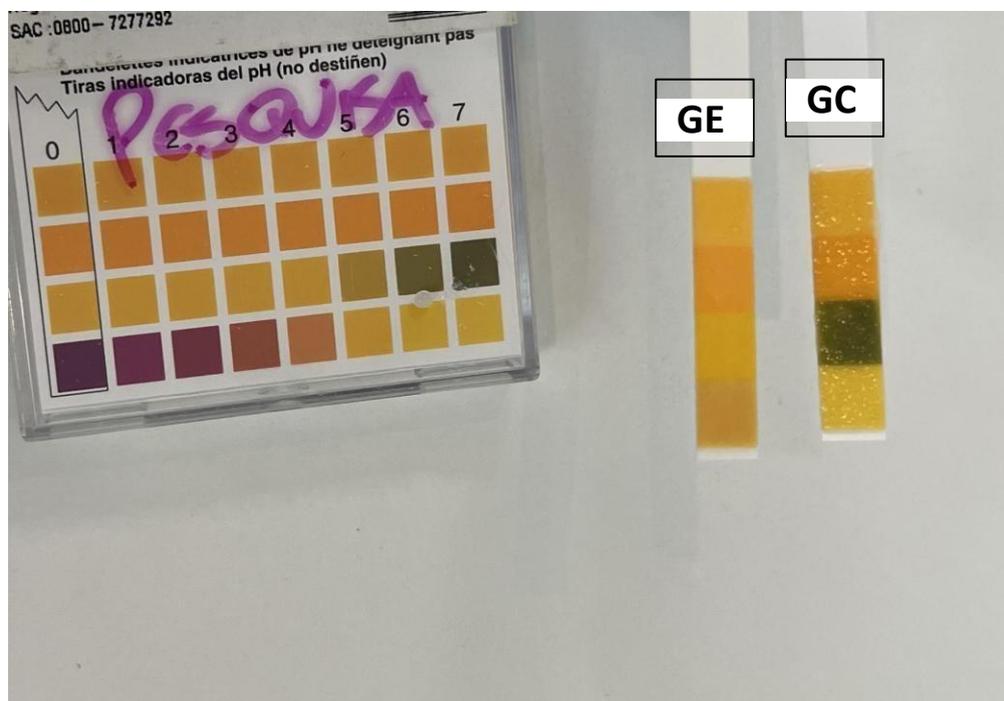


Figura 2: Tiras indicadores de PH. Do lado esquerdo a fita indica o PH do grupo de estudo (GE) estimado em 4,0. E do lado direito a tira indica o PH de 7,0 do grupo controle (GC).

3.5 Teste de vitalidade

O teste de vitalidade (VitalScreen) utilizando o método de Eosina-Nigrosina, foi realizado para verificar se os espermatozoides que estavam imóveis eram viáveis. O preparo foi feito utilizando tubo estéril de 5ml com 50ul do grupo controle e em outro tubo 50ul da amostra com o gel. Foram acrescentadas duas gotas do reagente 1 em cada tubo e após 30 segundos três gotas do reagente 2 em cada tubo. As amostras foram homogeneizadas e analisadas em lâmina (Global trade technology - Brasil) pelo microscópio invertido (Zeiss, Alemanha) com auxílio de óleo de imersão (Olympus - Japão). Os espermatozoides corados em rosa tinham a membrana celular rompida, resultado de morte celular. Já os espermatozoides que não se coraram apresentavam a membrana intacta e por esse motivo estavam viáveis (figura 2)

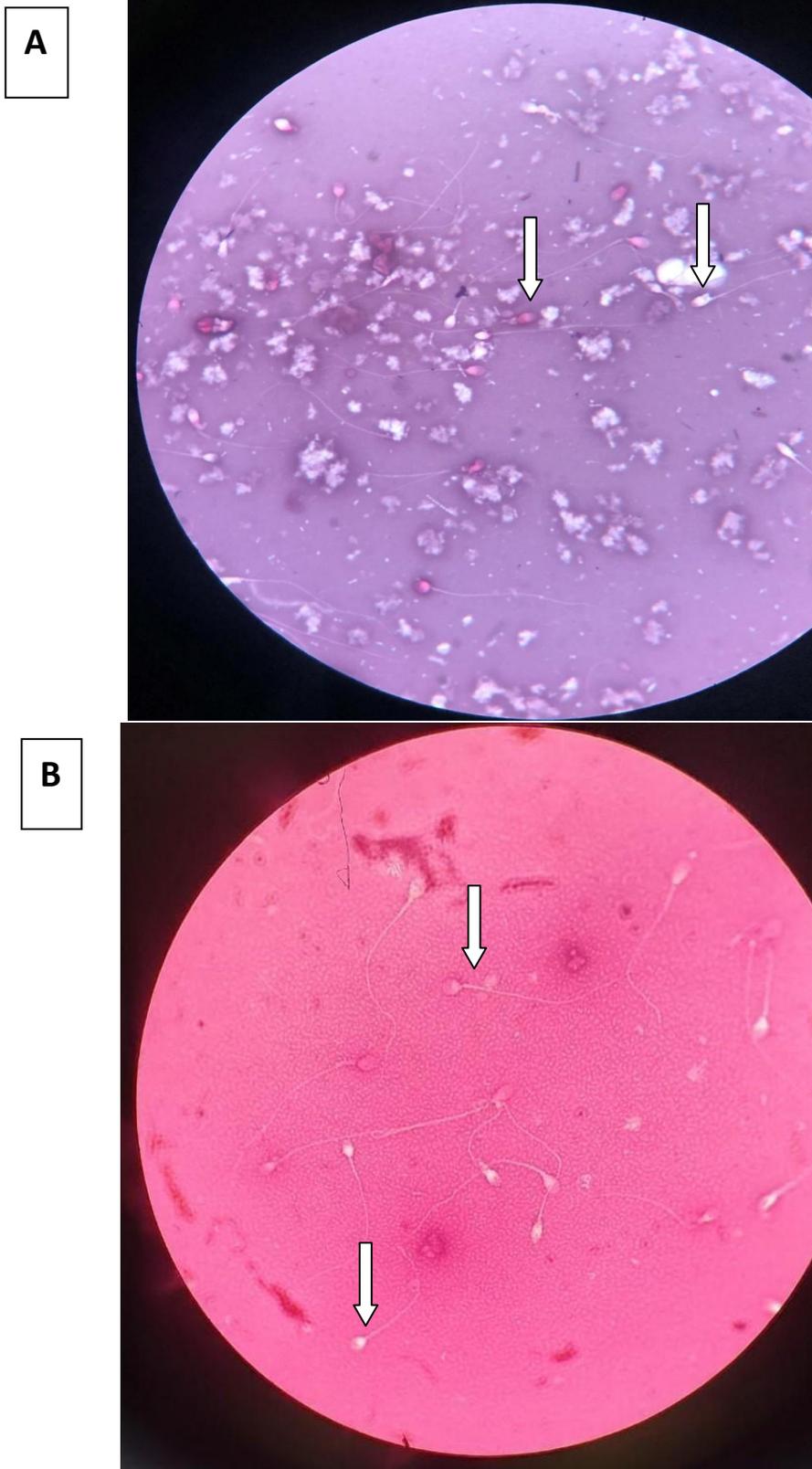


Figura 3: A imagem A representa o teste de vitalidade do grupo do estudo evidenciando as moléculas geradas a partir do contato com o gel de policarbofila. A imagem B representa o teste de vitalidade realizado no grupo controle. Em ambos os espermatozoides viáveis e inviáveis podem ser observados.

3.6 Análise Estatística

A distribuição dos dados foi avaliada com o D'Agostino & Pearson omnibus normality teste, usando o software Prism versão 6. Na coorte 1, diferenças entre amostras frescas, tratamento controle (meio de cultura) e tratamento experimental (gel de poliacarbofila) foram avaliadas com a análise de variância de Friedman seguida pelo teste de Dunn para múltiplas comparações. Na coorte 2, os efeitos do tempo e do tratamento foram analisados em conjunto usando o General Linear Model for Repeated Measures, usando o IBM SPSS Statistics versão 22. A vitalidade do esperma foi comparada entre dois tratamentos usando pares combinados de Wilcoxon assinados teste de classificação no software Prism. O tamanho da amostra foi calculado para detectar diferenças de pelo menos 15% na motilidade espermática entre os tratamentos {Queiroz, 2020 #28}, com alfa = 0,05 e poder estatístico = 0,8 {Machin D, 1997 #30}.

RESULTADOS

Os resultados de 24h de incubação de amostras de esperma com gel de policarbofila ou meio de cultura na coorte 1 (n = 152) são mostrados na Figura 4. A contagem de espermatozoides diminuiu de uma mediana de 50×10^6 /mL em amostras frescas para 38×10^6 /mL após incubação com meio de cultivo (controle) e para 36×10^6 /mL após incubação com gel de policarbofila ($p < 0,0001$, ANOVA de Friedman e teste de Dunn). Além disso, a proporção de motilidade progressiva dos espermatozoides (tipos A ou B de acordo com a classificação da OMS) diminuiu de uma mediana de 52% em amostras frescas para 11% após 24h de incubação com meio de cultura e 0% após 24h de incubação com gel de policarbofila ($< 0,0001$), (Figura 4B).

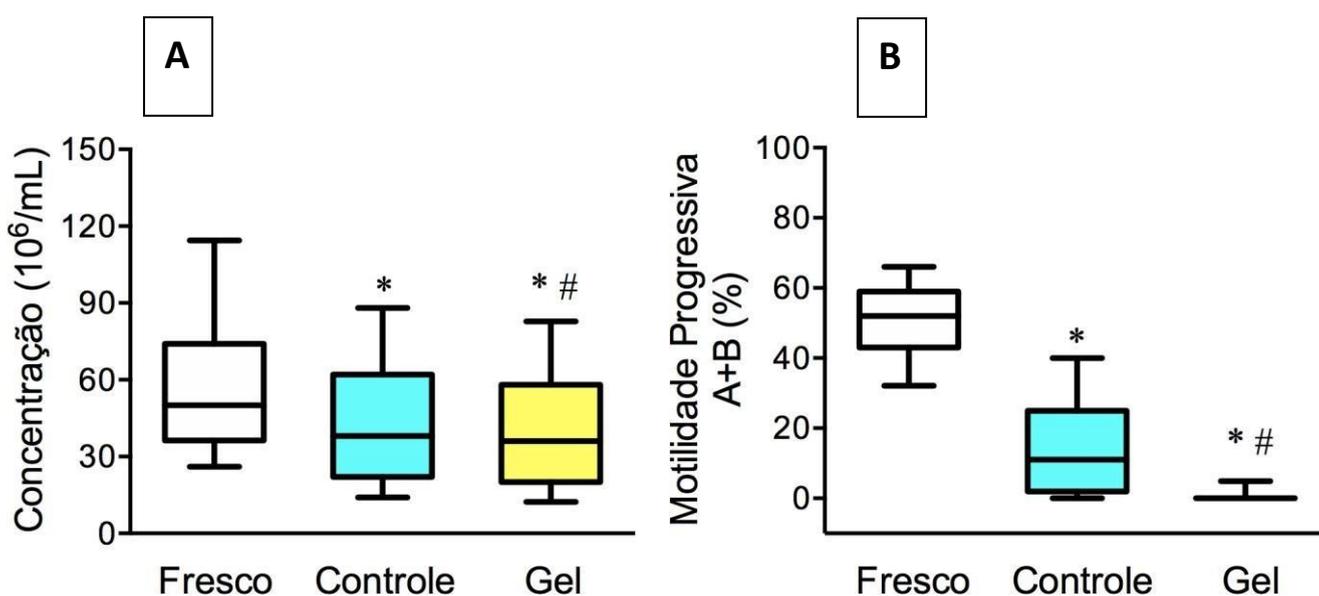


Figura 4: Contagem de espermatozoides (A) e motilidade (B) em amostras seminais de 152 participantes (coorte 1), subdivididas e analisadas antes (frescos) ou 24h após a incubação in vitro com meio de cultura (controle) ou gel policarbofilico. Os boxplots representam à mediana, quartis e percentis 10 e 90. * $p < 0,0001$ vs. fresco; # $p < 0,001$ vs. controle (ANOVA de Friedman e teste de Dunn).

A evolução temporal da contagem e motilidade dos espermatozoides durante as 24h de exposição à cultura com meio de cultivo ou gel de policarbofila (coorte 2, n = 14) é mostrado na Figura 5. Houve uma diminuição da contagem de espermatozoides em ambas as condições experimentais ao

longo do tempo, mas a diminuição foi mais evidente nas amostras tratadas com gel de poliacarbofila (ANOVA de medidas repetidas, $p = 0,001$, Figura 5A). Essa diferença foi ainda mais pronunciada na motilidade espermática, o que reduziu imediatamente após o contato da amostra seminal com gel de poliacarbofila (ponto de tempo 0 min) e diminuiu ao longo do experimento, contrastando com a incubação com meio de cultura (controle), que só afetou substancialmente a motilidade espermática após 24h (Figura 5B).

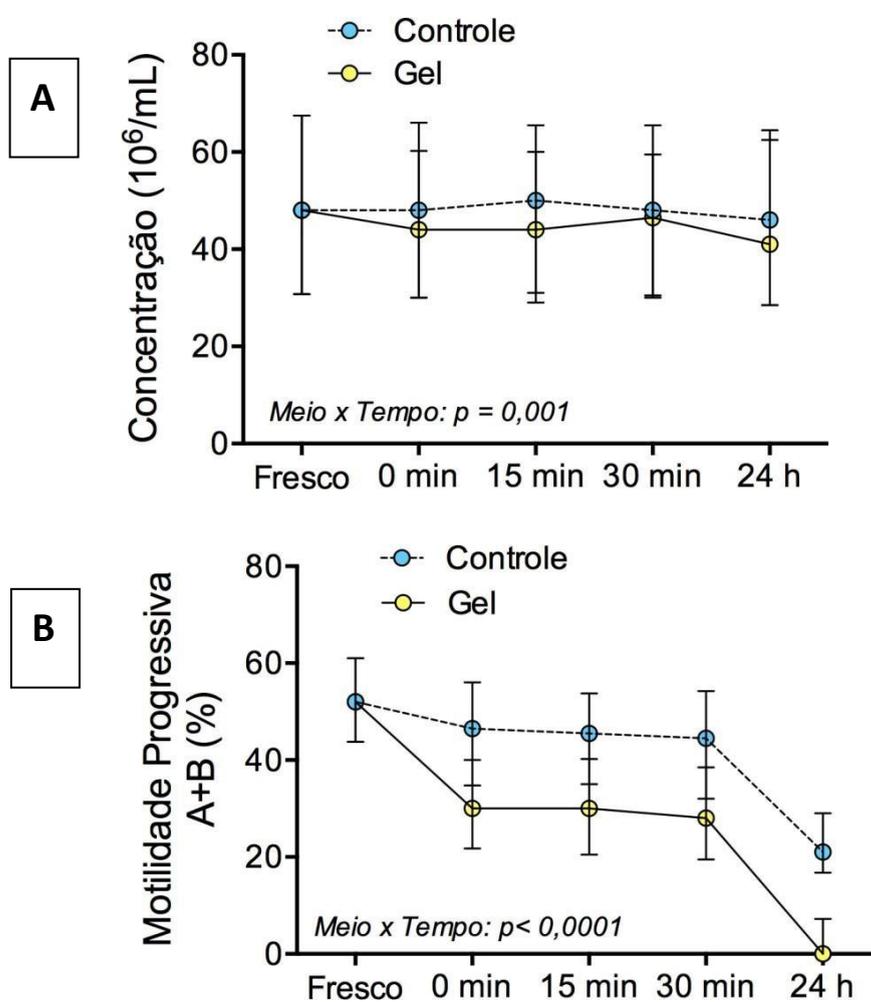


Figura 5: Evolução da contagem de espermatozoides (A) e motilidade (B) em amostras seminais de 14 participantes (coorte 2) analisadas antes (fresco) e após 0 min, 15 min, 30 min e 24h de incubação com meio de cultura (controle) ou gel de poliacarbofila. Os dados são apresentados como medianas e intervalos interquartis.

Conforme mostrado na Figura 6, a vitalidade do espermatozoides no final do experimento também diferiu significativamente entre os tratamentos, com mediana de 62,5% após exposição ao meio de cultura e 47% após exposição ao gel de policarbofila ($p = 0,020$ teste de Wilcoxon).

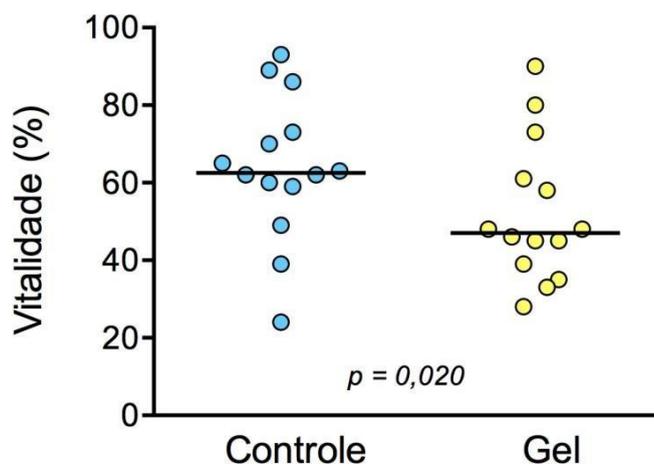


Figura 6: Vitalidade espermática em amostras seminais de 14 participantes (coorte 2) analisadas 24h após incubação in vitro com meio de cultura (controle) ou gel policarbofila. As barras horizontais representam as medianas do grupo e o valor “p” refere-se ao teste de Wilcoxon.

DISCUSSÃO

Já nos primeiros estudos realizados em 1972 e 1975 foi evidenciado um comprometimento na motilidade e vitalidade das amostras seminais após a incubação durante 15 minutos das alíquotas seminais com os lubrificantes Surgilube e KY Jelly. Na mesma época, já se pesquisavam lubrificantes alternativos na tentativa de auxiliar casais com queixa de ressecamento vaginal. No mesmo estudo (1975), foram testados óleos vegetais, glicerina e vaselina, mas também apresentaram efeito negativo sobre a motilidade dos espermatozoides.

Em 1984 Tulandi e McInnes observaram uma diminuição significativa da motilidade progressiva dos espermatozoides 30 minutos após a incubação com glicerina $\geq 2\%$. Atualmente, a glicerina ainda faz parte da composição de diversos lubrificantes disponíveis comercialmente, mesmo após evidência de prejuízo para amostra seminal. Inclusive, este composto está presente no hidratante vaginal à base de policarbofila, além de ser o segundo ingrediente mais abundante na formulação do lubrificante KY, usado em alguns estudos com vários relatos de ação espermicida.

Sandhu et al (2014), após identificarem um comprometimento da motilidade espermática com todos os lubrificantes testados (Pre-seed, Astroglide e KY), perceberam que o uso de produtos alternativos, como de óleo de canola, óleo de bebê e o óleo de gergelim, também apresentaram queda significativa na motilidade total, mesmo sendo produtos teoricamente mais naturais. Neste estudo, a exposição ao óleo de mostarda causou hiperativação persistente dos espermatozoides, e pode servir como base para estudos futuros, voltados para pacientes submetidos à punção de epidídimo ou testículo, biópsia testicular ou pacientes que apresentam astenozoospermia.

Em 2019 Mackenzie e Gellatly enfatizaram que a regulamentação da época na Escócia não exigia que lubrificantes vaginais declarassem em bula o impacto danoso na qualidade espermática ou na fertilidade natural, mesmo sendo um produto amplamente utilizado por casais tentantes. Os mesmos autores realizaram uma pesquisa com profissionais da área para avaliar seus conhecimentos com relação à recomendação do uso de lubrificantes vaginais. Dos 32 participantes 85% declararam que raramente ou nunca perguntaram

aos casais tentantes sobre o uso de lubrificantes em histórico médico, demonstrando a natureza sensível desse aspecto da anamnese médica.

A concentração de espermatozoides apresentou uma queda significativa entre os grupos de estudo e grupo controle tanto na curva de tempo (0, 15 e 30 minutos) quanto após 24 horas. Nas duas análises o grupo com o gel de policarbofila apresentou maior diferença estatística. Tal fato pode ser explicado pela característica hidrofílica do produto que gera grandes moléculas dificultando a contagem dos espermatozoides. Outro fator impactante na análise pode ser a pipetagem, já que algumas células podem sedimentar no fundo do tubo formando um pellet.

A motilidade foi o parâmetro que mais chamou a atenção, já no primeiro contato com o gel de policarbofila (0 minutos) a motilidade progressiva foi fortemente afetada. Tal fato pode ser explicado pela característica da viscoelasticidade do produto que gera grandes moléculas e impede a passagem livre dos espermatozoides. Além disso, o fato dos espermatozoides ficarem presos a essas estruturas pode gerar uma maior liberação de radicais livres devido à hiperativação mitocondrial, e posterior esgotamento de energia gerando primeiro, impacto na motilidade e em seguida morte celular, fato evidenciado pelo teste de vitalidade.

Mackenzie e Gellatly (2019) observaram por meio do teste de vitalidade que a piora da motilidade progressiva não foi resultado da morte celular. Diferentemente do que foi exposto pelos autores, nosso trabalho demonstra que a piora da motilidade progressiva no grupo incubado com o gel, quando comparado ao grupo controle, pode sim ter sido resultado de morte celular após 24h. Tal fato pode ser explicado pela possível dificuldade do espermatozoide em progredir, sobrecarregando as mitocôndrias e gerando um microambiente desfavorável e posterior morte celular.

A motilidade progressiva piorou substancialmente ao longo do tempo de exposição no grupo incubado com o gel de policarbofila, já no grupo controle essa alteração só foi percebida após 24 horas. Tal fato pode ser explicado pelo efeito tóxico do produto nos gametas após longa exposição, ou pela dificuldade de movimento dos espermatozoides. Sandhu et al (2014) corroboram com os

mesmos achados, confirmando a piora progressiva da motilidade ao longo do tempo de exposição.

Rossato et al (2008) confirmaram que a osmolaridade seminal é um parâmetro importante na avaliação da motilidade espermática e deve ser levado em consideração nas regulações das funções espermáticas. No estudo os pacientes normozoospermicos exibiram um valor médio de osmolaridade do sêmen significativamente menor do que os pacientes astenozoospermicos, tal fato deve ser levado em consideração quando pensamos que lubrificantes e hidratantes vaginais podem possuir níveis de osmolaridade de 5 a 10 vezes maior do que os níveis aceitáveis para função normal dos espermatozoides (MORTIMER *et al.*, 2013), portanto podem ter impacto direto na motilidade pela alteração da osmolaridade.

O Ph pode ser também um fator determinante no declínio da motilidade progressiva. As amostras seminais apresentaram Ph entre 7.2 e 8.0 e o meio de cultivo tamponado possuía Ph de 7.3-7.5. Já o gel de poliacarbofila, para mimetizar o ambiente do canal vaginal e suas secreções, apresenta Ph de 4,0. Mesmo após a diluição do hidratante com o meio de cultivo e incubação com o sêmen o Ph ácido era prevalente, tal fato pode acarretar em ambiente desfavorável para os espermatozoides, principalmente pela longa exposição ao gel.

O hidratante vaginal tem como base a poliacarbofila, segundo instruções da bula é utilizada no tratamento de constipação devido a sua capacidade de reter água. No trato vaginal seu mecanismo de ação acontece de forma similar para garantir a hidratação e umidificação local com ação prolongada, reduzindo os sintomas oriundos do ressecamento vaginal principalmente em mulheres na pós menopausa.

A poliacarbofila é um sal cálcico de ácido poliacrílico ligado ao divinilglicol. O ácido poliacrílico é utilizado em colírios oftalmológicos que atuam substituindo o fluido lacrimal em caso de síndrome de ressecamento ocular. Em bula o ativo é categorizado como risco C, ou seja, não há estudos adequados em mulheres grávidas. Em experiências animais ocorreram alguns efeitos colaterais no feto, mas o benefício do produto pode justificar o risco

potencial durante a gravidez. Embora o risco da policarbofila cálcica seja classificado como A não existe em bula disponível relato da utilização do produto em canal vaginal.

Além da policarbofila, outros produtos como o óleo de palma, glicerina e vaselina também chamam a atenção na composição do hidratante, por terem sido citados em artigos anteriores (Goldenberg e White (1975), Tulandi e McInnes (1984)), que demonstraram o efeito prejudicial dos produtos quando em contato com amostras seminais. Já o lactato de sódio presente na composição do produto é responsável pela manutenção do pH vaginal fisiológico, evitando a proliferação de fungos e bactérias indesejáveis. Teoricamente este composto poderia ser benéfico para os espermatozoides, tendo em vista que auxiliaria as mitocôndrias durante o ciclo de Krebs e posterior fosforilação oxidativa.

O butil éster de copolímero de polimetilviniléter/ácido maleico, presente na formulação do produto é comumente utilizado como polímero base para fabricação de bioadesivos, é o segundo composto mais abundante no gel de policarbofila. Possui característica de ser pouco solúvel nos fluidos vaginais e faz com que o gel tenha alta capacidade de adesão à mucosa vaginal. Tal característica não permite que o hidratante escorra, mas ao mesmo tempo pode comprometer a função espermática, e conseqüentemente gerar prejuízo na fertilidade pela mudança gerada no ambiente do canal vaginal.

Neste estudo não avaliamos o índice de fragmentação espermática, pois encontramos dificuldades técnicas na padronização do teste. Porém, essa poderia ser uma preocupação adicional tendo em vista que estudos recentes demonstraram risco aumentado de abortamento em caso de aumento da taxa de fragmentação do DNA seminal (AGARWAL, *et al.*, 2020; HADDOCK, *et al.*, 2020).

Uma limitação importante do presente projeto é que, mesmo que o estudo tente mimetizar o ambiente fisiológico do canal vaginal, é difícil prever a interação do gel com a parede e mucosa da vagina já que o hidratante possui indicação de uso fora do momento das relações sexuais.

Em relação aos lubrificantes, Steiner et al, 2013 avaliaram 296 mulheres das quais 25% afirmaram que usavam lubrificantes durante as tentativas de conceber, das 296 mulheres que entraram no estudo 148 engravidaram em até seis ciclos sugerindo que a utilização de lubrificante pode não ter tido interferência. O lubrificante Pre-seed foi o que apresentou menor impacto negativo na qualidade seminal. Quando incubado a 10% não apresentou alteração significativa na motilidade total ou progressiva no estudo de Agarwal 2008. Já Mowat 2014 e Sandhu 2014 concluíram que este lubrificante teve o menor efeito negativo ou apresentou queda mínima após 30 minutos. Atualmente o produto é vendido como fertility friendly e promete preservar a fertilidade dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino e ainda aumentar as chances de engravidar. Porém, na formulação do produto metilparabeno e propilparabeno chamam a atenção, já que estudos anteriores de Samarasinghe et al, (2018) demonstraram os efeitos prejudiciais do metilparabeno em cosméticos e produtos.

Há exatos 50 anos, os primeiros pesquisadores avaliaram os efeitos dos lubrificantes na qualidade espermática e mesmo após o interesse de alguns autores no tema, ainda não se sabe o real impacto deste tipo de produto nos gametas masculinos. Sabemos que o ressecamento vaginal é uma queixa recorrente e significativa principalmente em casais que tentam engravidar e que a utilização de lubrificantes, hidratantes vaginais ou até mesmo óleos naturais podem interferir na qualidade seminal e possivelmente nas taxas de sucesso do tratamento. Portanto acreditamos que este tipo de estudo é essencial e deve continuar.

CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que amostras seminais normais de homens em tratamento para infertilidade sofreram reduções significativas nos parâmetros de concentração, motilidade e vitalidade quando incubadas *in vitro* com o gel de poliacarbofila. Portanto, este estudo sugere que a utilização do hidratante vaginal a base de poliacarbofila para melhorar a queixa de ressecamento vaginal durante as tentativas de conceber não deve ser recomendada aos casais tentantes, devido à possibilidade de o gel prejudicar a qualidade espermática.

Tendo em vista que casais tentantes são um importante grupo que sofre com as consequências do ressecamento vaginal e muitas vezes precisam ter relações programadas e consecutivas, é interessante que novos estudos sejam feitos para determinar qual produto seria seguro e eficaz.

ANEXOS

ANEXO 1- Parecer do COEP

ANEXO 2- Termo de Consentimento livre e esclarecido (TCLE)

ANEXO 1 - PARECER DO COEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITOS DO GEL INTRAVAGINAL DE POLICARBOFILA NA QUALIDADE DOS ESPERMATOZOIDES.

Pesquisador: Selmo Geber

Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):
(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 3

CAAE: 20525219.0.0000.5149

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da UFMG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.744.169

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto da grande área das Ciências da Saúde e com temática especial inserida em "Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP".

Conforme descrito pelo proponente, o estresse causado a mulheres submetidas ao tratamento de infertilidade pode levar a uma piora na lubrificação vaginal determinando uma piora na qualidade da vida sexual do casal. Além disso, pode interferir nas taxas de sucesso do tratamento, se o casal não conseguir fazer o coito programando, de forma adequada. Por isso, esses casais, muitas vezes, optam pela utilização de lubrificantes vaginais para viabilizar a relação sexual além de torná-la mais confortável e prazerosa. Uma das alternativas é o uso do gel de Policarbofila. Entretanto, os possíveis efeitos desse gel sobre a qualidade dos espermatozoides não estão bem estabelecidos. Assim, o presente projeto tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos do gel intravaginal de policarbofila na qualidade espermática.

O pesquisador propõe um estudo prospectivo, experimental, controlado. Inicialmente, serão avaliados os parâmetros espermáticos de concentração, motilidade geral e progressiva e morfologia do sêmen a fresco (grupo fresco). Em seguida, o sêmen será separado em duas

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad. Sl. 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.744.169

amostras que serão preparados pelo método Swim Up e posteriormente reavaliado utilizando-se os mesmos parâmetros. Esse é o método de escolha para preparo do sêmen em casos de Inseminação intra-uterina e Fertilização in vitro. A primeira amostra, será exposta ao meio de cultura (Gamete – Irvine Scientific - USA) específico para preparo seminal (grupo controle) e, na segunda será exposto ao mesmo meio de cultivo contendo gel de poliacarbofila (grupo de estudo). Serão selecionados apenas os semens de homens saudáveis, que tiverem todos os seus parâmetros normais de acordo com a última resolução da Organização Mundial da Saúde (OMS 2010). Os doadores serão voluntários, convidados a participar o estudo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar os possíveis efeitos do gel intravaginal de poliacarbofila na qualidade espermática.
Objetivo Secundário: Avaliar a concentração, motilidade geral, motilidade progressiva e morfologia espermática antes e após a aplicação do gel de poliacarbofila

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme descrito pelo proponente:

Riscos: como avaliaremos somente o semen de doadores saudáveis, fora de tratamento, não existem riscos
Benefícios: O trabalho poderá instruir médicos e profissionais da saúde a respeito da recomendação de lubrificantes para casais que desejam engravidar, podendo contribuir nas taxas de gravidez.

Apesar da inadequação em mencionar a ausência de riscos, conforme citado no Formulário de Informações Básicas, na nova versão apresentada em resposta à diligência, o risco de constrangimento e em relação à confidencialidade é abordado no TCLE na nova versão após diligência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa envolve a utilização de sêmen de humanos, que, conforme Projeto Completo e Formulário de Informações Básicas, serão obtidos de voluntários do sexo masculino, saudáveis, que concordarem em participar. Informa não haver riscos para os participantes. Na versão em resposta à diligência, é esclarecido a faixa etária dos participantes (18 a 60 anos). No Projeto Completo é informado que todos os procedimentos serão realizados na Clínica Origen, portanto, subentende-se que não haverá coleta fora da Clínica. No Projeto Completo, informa-se que "os doadores serão voluntários, convidados a participar o estudo. O sêmen será colhido por

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.744.169

masturbação, após abstinência de 2 a 5 dias."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: Folha de Rosto assinada pelo Diretor da Faculdade de Medicina da UFMG, Formulário de Informações Básicas, Projeto Completo/Brochura de Investigação, Carta de anuência da Clínica Origen, TCLE com alterações solicitadas na diligência, com a inclusão de risco de constrangimento, informação sobre a forma de coleta, solicitação de uso imediato de material biológico e descarte, informações sobre ausência de custos ou remuneração.

Apresenta carta resposta em que esclarece que o material biológico não será armazenado, sendo usado no mesmo dia de obtenção e descartado. Incluído Termo de Constituição de Biorrepositório assinado.

Recomendações:

não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O proponente atendeu as pendências solicitadas, incluindo o Termo de Constituição de Biorrepositório.

SMJ, o projeto : " EFEITOS DO GEL INTRAVAGINAL DE POLICARBOFILA NA QUALIDADE DOS ESPERMATOZOIDES ", do pesquisador Selmo Geber, está aprovado. Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.744.169

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	BiorrepositSelmoGeber.pdf	04/12/2019 10:07:05	Adriana O Costa	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1413098.pdf	27/11/2019 16:12:57		Aceito
Outros	CartaRespostaGelVaginalSPZ3.pdf	27/11/2019 16:11:22	Selmo Geber	Aceito
Outros	CartaRespostaGelVaginalSPZ2.pdf	11/11/2019 22:08:40	Selmo Geber	Aceito
Outros	CartaRespostaGelVaginalSPZ.pdf	28/10/2019 15:07:24	Selmo Geber	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoHidrafemmeSpz2.pdf	28/10/2019 15:06:46	Selmo Geber	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEGelVaginalSpz2.pdf	28/10/2019 15:06:13	Selmo Geber	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEGelVaginalSpz.pdf	10/09/2019 20:32:50	Selmo Geber	Aceito
Outros	CartaDeAnuenciaGelVaginalSpz.pdf	09/09/2019 16:35:38	Selmo Geber	Aceito
Outros	ParecerCamaraDepartamental.pdf	06/09/2019 11:35:26	Selmo Geber	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoHidrafemmeSpz.pdf	06/09/2019 11:01:18	Selmo Geber	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoProjetoGelVaginalSPZ.pdf	06/09/2019 11:01:00	Selmo Geber	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad S1 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 3.744.169

BELO HORIZONTE, 04 de Dezembro de 2019

Assinado por:

Eliane Cristina de Freitas Rocha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad S1 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31) 3409-4592

E-mail: coep@prq.ufmg.br

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Gostaríamos de convidá-los a participar da pesquisa que estamos realizando no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, em conjunto com a Clínica ORIGEN. O objetivo da pesquisa é avaliar as consequências geradas a partir da utilização do gel de policarbofila na qualidade espermática. Sua decisão é voluntária, uma vez que você decidir participar do estudo, você pode retirar seu consentimento e participação a qualquer momento. Após a assinatura deste termo você e todos os pacientes incluídos no estudo serão selecionados para doação de sêmen, a amostra será analisada previamente e poderá ou não ser selecionada.

A coleta será realizada por masturbação sem auxílio de lubrificantes em sala preparada nas dependências da clínica Origen em um frasco estéril fornecido pela mesma. É necessário um período de abstinência de 2 a 5 dias para manter os padrões espermáticos viáveis. Pode haver constrangimento pelo procedimento necessário à doação do sêmen, porém os riscos decorrentes da participação na pesquisa são classificados como Risco Mínimo, uma vez que os pacientes serão identificados por número e a coleta de sêmen é um procedimento não invasivo. A fim de se minimizarem os riscos referentes à confidencialidade e sigilo dos dados, os pesquisadores responsáveis deverão assinar um termo de sigilo, garantindo assim, a não divulgação dos dados pessoais coletados sobre os pacientes. Além disso, todos os nomes serão omitidos e cada paciente receberá um código numérico da pesquisa, o qual será utilizado para toda anotação, tabulação e análise de dados.

Ao consentir participar da pesquisa, solicitamos que autorize a utilização do sêmen para a pesquisa e o seu descarte após o uso. Ao fornecer o material, o mesmo será transportado e armazenado em biorrepositório na Clínica Origen à temperatura de 34°C antes da análise, sob a responsabilidade do coordenador da pesquisa Ana Carolina Xavier Goulart, e imediatamente usado somente na pesquisa, sendo descartado de acordo com as normas sanitárias.

Você poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-UFMG) em caso de dúvidas éticas nos contatos informados ao final desse documento. Esse termo deve ser assinado em duas vias de igual teor, para que fique em posse do participante da pesquisa e o outro do pesquisador.

O acesso e a análise dos dados coletados se farão apenas pelos pesquisadores e/ou seus orientadores/coordenadores. Serão resguardadas as suas identidades e privacidade, uma vez que não haverá divulgação individual, sendo consideradas confidenciais todas as informações pessoais de todos os pacientes estudados. Serão divulgados apenas os resultados da pesquisa, em eventos médicos e científicos ou publicações científicas, sem qualquer identificação dos participantes.

Vocês terão garantia de assistência, sendo que em caso de dúvidas ou qualquer tipo de problemas referentes à sua participação na pesquisa, o médico responsável Dr Selmo Geber e a pesquisadora Ana Carolina Xavier Goulart poderão ser contatados a qualquer momento, pelos contatos que constam ao final desse termo. A assistência será prestada via telefone, e-mail ou até mesmo com um retorno médico. Posteriormente ao encerramento e/ou a interrupção da pesquisa, você poderá ter acesso aos resultados após a publicação do artigo científico. Fica esclarecido que a participação no estudo não implica em nenhum tipo de custos para o participante.

_____._____. (Rubrica)

Eu, _____, li e discuti com o pesquisador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendemos que sou livre para aceitar ou recusar, e que posso interromper minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Declaro estar ciente de que a participação no estudo não implica em nenhum tipo de remuneração ao final da pesquisa, sendo a revogação deste consentimento permitida a qualquer tempo, por escrito, mediante recibo, sem qualquer penalidade. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito. Eu entendo a informação apresentada neste termo de consentimento. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas elas foram respondidas. Diante do exposto, concordo de espontânea vontade em participar deste estudo e permito ao pesquisador a utilização dos dados obtidos, para serem incluídos na pesquisa, sem que isso implique na minha identificação. Fui também esclarecida de que os usos das informações por nós oferecidas estão submetidos às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

Belo Horizonte, _____ de _____ de 202-

Assinatura da participante: _____

Assinatura do pesquisador: _____

REFERÊNCIAS

1. AGARWAL, A *et al.* Effect of vaginal lubricants on sperm motility and chromatin integrity: a prospective comparative study. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 89, n. 2, p. 375-379, fev. 2008. Elsevier BV. doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.02.050.
2. AGARWAL, A *et al.* Sperm DNA Fragmentation: a new guideline for clinicians. **The World Journal Of Men'S Health**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 412, 2020. Korean Society for Sexual Medicine and Andrology. doi.org/10.5534/wjmh.200128.
3. ANDERSON, L.; LEWIS, S. E; MCCLURE, N.. The effects of coital lubricants on sperm motility in vitro. **Human Reproduction**, [S.L.], v. 13, n. 12, p. 3351-3356, 1 dez. 1998. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/humrep/13.12.3351
4. EDWARDS, D; PANAY, N. Treating vulvovaginal atrophy/genitourinary syndrome of menopause: how important is vaginal lubricant and moisturizer composition?. **Climacteric**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 151-161, 26 dez. 2015. Informa UK Limited. doi.org/10.3109/13697137.2015.1124259.
5. FRISHMAN, G; LUCIANO A; MAIER D. Evaluation of Astroglide,* a new vaginal lubricant: effects of length of exposure and concentration on sperm motility ?*astro-lube inc., north hollywood. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 630-632, set. 1992. Elsevier BV. doi.org/10.1016/s0015-0282(16)55279-0.
6. GOLDENBERG, R; WHITE, R. The Effect of Vaginal Lubricants on Sperm Motility in Vitro. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 26, n. 9, p. 872-873, set. 1975. Elsevier BV. doi.org/10.1016/s0015-0282(16)41350-6.
7. GONCHARENKO, Vadym *et al.* Vaginal dryness: individualised patient profiles, risks and mitigating measures. **Epma Journal**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 73-79, mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. doi.org/10.1007/s13167-019-00164-3.
8. HADDOCK, Lesley *et al.* Sperm DNA fragmentation is a novel biomarker for early pregnancy loss. **Reproductive Biomedicine Online**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 175-184, jan. 2021. Elsevier BV. doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.09.016.
9. JUNIOR, Felipe; GIACOBBE Marcelo; MONTELEONE, Pedro. Indução e monitorização de ovulação na baixa complexidade: coito programado (cp)

e inseminação intrauterina. *In* : CAETANO, João Pedro. **MEDICINA REPRODUTIVA SBRH**. São Paulo: Segmento Farma 2018. P. 160 - 167.

10. MACKENZIE, S; GELATLY, S. Vaginal lubricants in the couple trying-to-conceive: assessing healthcare professional recommendations and effect on in vitro sperm function. **Plos One**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 0209950, 14 maio 2019. Public Library of Science (PLoS). doi.org/10.1371/journal.pone.0209950.
11. MESEN, T; STEINER, A. Effect of vaginal lubricants on natural fertility. **Current Opinion In Obstetrics & Gynecology**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 186-192, jun. 2014. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). doi.org/10.1097/gco.0000000000000066.
12. MOWAT, A *et al.* The effects of vaginal lubricants on sperm function: an in vitro analysis. **Journal Of Assisted Reproduction And Genetics**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 333-339, 5 jan. 2014. Springer Science and Business Media doi.org/10.1007/s10815-013-0168-x.
13. MORTIMER, D; BARRATT. L. R.; BJORND AHL, L.; JAGER, C. de; JEQUIER, A. M.; MULLER, C. H.. What should it take to describe a substance or product as 'sperm-safe'. **Human Reproduction Update**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 1-45, 22 mar. 2013. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmt008.
14. PARK, D *et al.* Effects of feminine cleanser Inclear on sperm motility: a prospective study. **Clinical And Experimental Reproductive Medicine**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 165, 2014. The Korean Society for Reproductive Medicine. doi.org/10.5653/cerm.2014.41.4.165.
15. POTTER, N.; PANAY, N.. Vaginal lubricants and moisturizers: a review into use, efficacy, and safety. **Climacteric**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 19-24, 29 set. 2020. Informa UK Limited. .doi.org/10.1080/13697137.2020.1820478.
16. ROSSATO, M.; BALERCIA, G.; LUCARELLI, G.; FORESTA, C.; MANTERO, F.. Role of seminal osmolarity in the regulation of human sperm motility. **International Journal Of Andrology**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 230-235, ago. 2002. Wiley..doi.10.1046/j.1365-2605.2002.00353.x.
17. SAMARASINGHE, S. V. *et al.* Parabens generate reactive oxygen species in human spermatozoa. **Andrology**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 532-541, 2 maio 2018. Wiley. doi.org/10.1111/andr.12499.

18. SANDHU, R *et al.* In vitro effects of coital lubricants and synthetic and natural oils on sperm motility. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 101, n. 4, p. 941-944, abr. 2014. Elsevier BV. doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.024.
19. STEINER, A *et al.* Effect of Vaginal Lubricants on Natural Fertility. **Obstetrics & Gynecology**, [S.L.], v. 120, n. 1, p. 44-51, jul. 2012. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). doi.org/10.1097/aog.0b013e31825b87ae.
20. TAGATZ, G; OKAGAKI, T; SCIARRA, J. The effect of vaginal lubricants on sperm motility and viability in vitro. **American Journal Of Obstetrics And Gynecology**, [S.L.], v. 113, n. 1, p. 88-90, maio 1972. Elsevier BV. doi.org/10.1016/0002-9378(72)90457-7.
21. TULANDI, T; MCINNES, R. Vaginal lubricants: effect of glycerin and egg white on sperm motility and progression in vitro. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 151-153, jan. 1984. Elsevier BV. doi.org/10.1016/s0015-0282(16)47558-8.
22. VALE, F; REZENDE, C; RACICLAN, A; BRETAS, T; GEBER, S. Efficacy and safety of a non-hormonal intravaginal moisturizer for the treatment of vaginal dryness in postmenopausal women with sexual dysfunction. **European Journal Of Obstetrics & Gynecology And Reproductive Biology**, [S.L.], v. 234, p. 92-95, mar. 2019. Elsevier BV. doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.12.040.
23. HOFER, J; BATES, G. Ovulation Induction. **Obstetrics And Gynecology Clinics Of North America**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 27-37, mar. 2015. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ogc.2014.09.007.