



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências da Saúde

# **Contraceção masculina: métodos utilizados e perspetivas futuras**

**Joana Vieira da Naia e Silva**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Medicina**  
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Dr. Bruno Alexandre Guerra Jorge Pereira

**Covilhã, maio de 2019**



# Agradecimentos

À minha mãe e irmã, por serem o meu incentivo e porto seguro, pelo apoio ilimitado e por me ajudarem a seguir o meu sonho.

À minha avó e ao meu pai pelo amor incondicional e por acreditarem em mim.

Aos meus tios e restantes familiares pela presença e apoio nesta jornada.

Ao José, pelo amor e apoio que me dá todos os dias.

Ao meu orientador, Dr. Bruno Pereira, não só por ter aceitado acompanhar-me nesta etapa final do meu percurso como estudante, mas também pelos conhecimentos que me transmitiu e pelo exemplo de profissional que é.

A todos os meus amigos.



# Resumo

Atualmente, a população mundial está a crescer a uma velocidade muito elevada, o que tem várias consequências na economia mundial. O planeamento familiar e a contraceção são muito importantes para evitar gravidezes indesejáveis. Ainda que o papel da contraceção tenha sido atribuído à mulher durante muitos anos, os padrões e os papéis sociais de há 50 anos já não são os mesmos da atualidade, reclamando-se cada vez mais a igualdade de géneros em todas as áreas possíveis. Por outro lado, são cada vez mais os homens que demonstram vontade e interesse em participar ativamente no planeamento familiar com métodos para além dos já praticados e que têm as suas desvantagens: a vasectomia com o seu carácter irreversível e o preservativo com a sua baixa eficácia. (1,2)

De facto, a área da contraceção masculina ainda se encontra muito subdesenvolvida e com uma evolução lenta. Nos últimos anos, muitas têm sido as tentativas de criar um método seguro, eficaz e reversível através de vários estudos de compreensão da fisiologia da espermatogénese e de experiências com hormonas e moléculas que intervenham neste processo. Assim, a contraceção masculina pode dividir-se numa **área hormonal**, que se baseia na supressão do eixo hipotálamo-hipófise-testicular, e numa **área não hormonal**, em que o objetivo é interromper a espermatogénese e a maturação, sobrevivência e transporte dos espermatozoides, entre outros, através da intervenção em alvos específicos.

Deste modo, ainda que muitos métodos se demonstrem bastante promissores e estejam quase prontos a serem implementados, é necessário o apoio e financiamento da indústria farmacêutica ou de outras entidades por forma a que se desenvolvam estudos na população humana e com uma amostra maior, mais diferenciada e mais abrangente. Assim, a criação e comercialização de um método contraceptivo masculino eficaz, seguro e reversível está cada vez mais próxima. Entretanto, enquanto tal não se verificar, as mulheres continuarão a carregar o fardo da contraceção e do planeamento familiar.

## Palavras-chave

Contraceção masculina; contraceção hormonal; contraceção não hormonal; fertilidade; azoospermia.



# Abstract

Nowadays, the world population is growing at a fast rate, which has multiple consequences in the global economy. Family planning and contraception are very important to avoid unplanned pregnancies. Even though the contraception role has been appointed to women all these years, the social standards of 50 years ago don't hold as well in a time where we see a growth of gender equality all around. Meanwhile, there's a growing faction of men who show interest in actively participating in family planning with methods outside the existing ones which have their disadvantages: vasectomy which is irreversible and the condom which has low efficiency. (1,2)

In fact, the male contraception field is in its early stages and is seeing slow gains. In the last years, there have been many attempts to create a safe, reliable and reversible method through multiple studies focused on learning more about spermatogenesis physiology and clinical trials with hormones and molecules that intervene in this process. As it is, male contraception can be divided into the **hormonal methods**, based on the suppression of the hypothalamic-pituitary-gonad loop, and the **nonhormonal methods**, where the main objective is to interrupt spermatogenesis and maturation, survival and transport of sperm, among others, through intervention in specific targets.

Even though there are many promising methods on the final stages of clinical trials, there is a need of financial backup from the pharmaceutical industry or other entities in order to promote more studies and bigger samples of the population. As it is, creation and commercialization of an effective, safe and reversible male contraceptive is as close as ever, although in the current situation women must bear alone the burden of contraception and family planning.

## Keywords

Male contraception; hormonal contraception; nonhormonal contraception; fertility; azoospermia.



# Índice

1	Introdução .....	1
2	Metodologia .....	3
3	Enquadramento Teórico.....	5
3.1	Métodos Não Hormonais .....	6
3.1.1	Bloqueio da espermatogénese .....	6
3.1.2	Bloqueio da maturação e sobrevivência dos espermatozoides .....	10
3.1.3	Interrupção do transporte dos espermatozoides.....	14
3.1.4	Outros métodos .....	16
3.2	Métodos Hormonais.....	18
3.2.1	Androgénios isolados.....	19
3.2.2	Combinação de androgénios e gestagénios .....	19
3.2.3	Outras combinações.....	20
3.2.4	Riscos e benefícios dos métodos hormonais .....	22
3.3	Perspetivas e Reflexões Futuras .....	24
4	Conclusão .....	27
5	Bibliografia .....	29



# Lista de Figuras

Figura 1 - Mecanismos da contraceção masculina (4) .....	5
--	---



# Lista de Tabelas

Tabela 1 - Contraceptivos não hormonais (42).....	12
Tabela 2 - Características dos métodos hormonais (3).....	21



# Lista de Acrónimos

ALDH1A2	Aldeído desidrogenase 1A2 específica dos testículos
DMAU	Undecanoato de dimetandrolona
EPPIN	Inibidor da peptidase do epidídimo
FSH	Hormona folículo-estimulante
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GnRH	Hormona libertadora de gonadotropinas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IGF-3	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 3
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormona luteinizante
RAR	Recetores de ácido retinoico
RISUG	Inibição supervisionada reversível do esperma
SMA	Estireno-anidrido maleico



# 1 Introdução

Atualmente, a população mundial está a crescer a um ritmo muito acelerado, o que tem consequências na economia e demografia dos países. O planeamento familiar e, por extensão, a contraceção são, de facto, extremamente importantes para evitar gravidezes indesejáveis que agravem esta tendência. Os métodos contraceptivos atuais ajudam os casais a atingir os seus objetivos, no entanto é incorreto assumir que a sua simples existência provoque uma redução da população dos países menos desenvolvidos: a motivação e vontade do casal permanecem, neste ponto, decisivas. (1) Para além disto, ainda que existam várias opções e metodologias contraceptivas, a maioria deles são femininos e as gravidezes indesejadas continuam a ser uma realidade que contribui para este aumento da população com as suas repercussões em termos económicos, ecológicos e sociais.

No entanto, a nossa sociedade está em plena e constante mudança. Os padrões e os papéis sociais de há 50 anos já não são os mesmos da atualidade, reclamando-se cada vez mais a igualdade de géneros em todas as áreas possíveis (o que inclui a contraceção) e o desejo de partilha de responsabilidades por parte do casal. Assim, é altura de abandonar a crença, da parte dos poucos que ainda a têm, de que a contraceção e o planeamento familiar são papel da mulher e impulsionar o desenvolvimento de métodos contraceptivos masculinos.

De facto, a área da contraceção masculina ainda se encontra muito subdesenvolvida, com a representação do preservativo e da vasectomia, enquanto que existe uma panóplia quase infundável de contraceptivos femininos. Estudos apontam para que apenas um quarto dos casais por todo o mundo utilize métodos masculinos, mas que o interesse global e o uso dos mesmos esteja a aumentar. (1) Outros fatores importantes que impulsionam o desenvolvimento de contraceptivos masculinos são o facto de algumas mulheres não poderem usar os métodos femininos por comorbilidades ou efeitos adversos. Tendo em conta que os riscos aumentam com a duração do uso dos métodos, é importante haver uma partilha entre homem e mulher, de forma a reduzir o perigo de longa exposição para ambos os parceiros.

Por fim, um bom candidato a método de contraceção deve ser pelo menos tão efetivo como os métodos femininos, aceitável pelos dois parceiros, de efeito imediato e com poucos efeitos secundários, particularmente aqueles que interferem com a masculinidade, libido e ereção. Por outro lado, não deve ter efeitos nefastos na descendência, deve ser reversível no que concerne à fertilidade, facilmente acessível e, por fim, financeiramente suportável. Estes critérios são usados como guia para avaliar e implementar os métodos existentes e os que estão em desenvolvimento. (1)

O principal objetivo deste trabalho é rever e sistematizar a informação existente sobre a contraceção masculina de uma forma pragmática e aplicável na prática clínica de todos os

médicos, proporcionando um modo rápido e simples de aceder a estes dados. Com este intuito, os métodos mais utilizados na atualidade, os mais promissores e com maior capacidade de revolucionar esta área num futuro próximo foram abordados com maior pormenor devido ao seu maior interesse prático e clínico. Por fim, pretende-se que esta dissertação seja compreensível por qualquer profissional da área da saúde, de forma a ser possível a contextualização do estado de arte da contraceção masculina.

## 2 Metodologia

Para a realização desta revisão de literatura, uma vasta pesquisa bibliográfica sobre a contraceção masculina foi realizada, recorrendo-se principalmente à PubMed e ao Google Scholar. Esta pesquisa permitiu identificar os artigos mais relevantes publicados até setembro de 2018 nas áreas da Medicina e Urologia.

A pesquisa foi conduzida na língua inglesa, utilizando um protocolo de texto livre, e incluiu essencialmente os seguintes termos: “*male contraception*”, “*male contraceptives*”, “*hormonal contraception*” e “*nonhormonal contraception*”. De seguida, foi realizada uma pesquisa mais específica sobre os métodos contraceptivos considerados mais relevantes e promissores.

Não foi feita restrição da data de publicação dos artigos, mas estes foram selecionados pela sua pertinência e atualidade, dando-se preferência a publicações que incluíssem o género masculino e população humana adulta. Para além disto, foi feita uma análise das referências dos artigos utilizados, por forma a garantir que outros estudos relevantes fossem incluídos nesta dissertação. Por fim, foram excluídos os estudos que apenas analisavam o género feminino ou a população pediátrica.



### 3 Enquadramento Teórico

A contraceção masculina pode ser dividida em duas grandes áreas de investigação: a área hormonal e a não hormonal. Os métodos hormonais baseiam-se fundamentalmente na supressão do eixo hipotálamo-hipófise-testicular e, conseqüentemente, da espermatogénese enquanto que os não hormonais têm como objetivo interromper a espermatogénese e a maturação, sobrevivência e transporte dos espermatozoides, entre outros mecanismos, através da intervenção em alvos específicos. (3) A Figura 1 ilustra precisamente estes mecanismos: à esquerda está representado um esquema do *feedback* normal do eixo hipotálamo-hipófise-testicular, em que as setas verdes representam a estimulação positiva e as vermelhas representam o *feedback* negativo da testosterona no hipotálamo e hipófise; o esquema do meio demonstra a interrupção do *feedback* normal devido à administração exógena de androgénios com ou sem adição de progesterona; o esquema da direita representa os mecanismos de ação de alguns contraceptivos não hormonais, sem alteração da função normal do eixo hipotálamo-hipófise-testicular. (4)

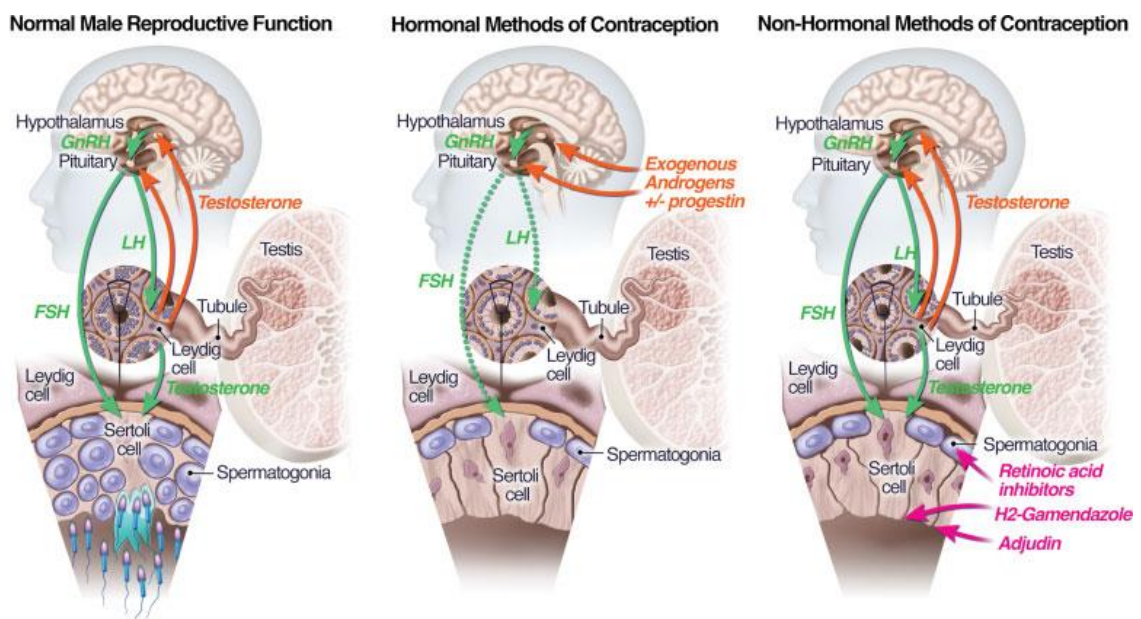


Figura 1 - Mecanismos da contraceção masculina (4)

Neste capítulo serão abordados os métodos não hormonais (3.1) e os hormonais (0), nomeadamente os mais utilizados e os que se consideram mais promissores, terminando com algumas perspetivas futuras (3.3).

### 3.1 Métodos Não Hormonais

Contraceção não hormonal pode ser definida como uma forma de contraceção masculina que não envolve a administração de hormonas ou outros agentes que bloqueiam a secreção de outras hormonas ou a ação destas. Várias opções de métodos não hormonais têm sido estudados e parecem ser mais apelativos do que os hormonais, uma vez que evitam o impacto nas concentrações de testosterona e na função sexual e contornam conotações negativas, devido ao uso de esteroides anabolizantes, por vezes associadas a estes métodos, como por exemplo desqualificações no desporto. Para além disto, teoricamente são mais específicos, o que minimiza os efeitos adversos relacionados com os agentes hormonais, e podem ter um início de ação mais rápido. Outra vantagem é que estes agentes podem ser mais facilmente administrados por via oral, ao contrário dos esteroides que requerem uma administração parentérica ou transdérmica. (3-5)

Nesta secção vão ser abordadas várias formas de contraceção não hormonal, detalhando principalmente os métodos utilizados no presente e os que demonstram ser mais promissores no futuro. Assim, inicialmente serão abordados os métodos que atuam através do bloqueio da espermatogénese, químico e físico, (3.1.1) em seguida os que bloqueiam a maturação e sobrevivência dos espermatozoides (3.1.2), os que interrompem o transporte dos espermatozoides (3.1.3) e, por fim, outros métodos que não se incluem em nenhuma das categorias anteriormente referidas (3.1.4).

#### 3.1.1 Bloqueio da espermatogénese

Vários agentes têm sido propostos como inibidores da espermatogénese. No entanto, muitos só atuam em modelos não animais e outros são tóxicos e, por vezes, resultam em infertilidade irreversível. De seguida, serão apresentados os métodos mais estudados e promissores da supressão da espermatogénese, inicialmente os bloqueadores químicos e, seguidamente, os que atuam através de um bloqueio físico da espermatogénese.

Em relação ao bloqueio químico, os derivados da lonidamina, adjudina e H2-gamendazole, estão há muito tempo em estudo. A lonidamina foi originalmente sintetizada como um fármaco antineoplásico e atua rompendo as ligações entre as células de Sertoli e as germinativas, o que faz com que se formem espermátides imaturas. No entanto, como a janela terapêutica da lonidamina é estreita e está associada a muitos efeitos adversos, foram desenvolvidos análogos mais seguros e eficazes, como a adjudina (AF-2364). (3)

Experiências em ratos com administração de duas doses de 50 mg/kg de **adjudina** resultaram em 100% de infertilidade reversível depois de 5 semanas de tratamento, sem alterações nas concentrações séricas de testosterona, hormona folículo-estimulante (FSH) ou hormona luteinizante (LH). (6,7) Contudo, alguns animais apresentaram inflamação hepática e atrofia muscular e, por isso, os investigadores conjugaram a adjudina com FSH (subunidade  $\beta$ ), o que

permitiu reduzir a dose de adjudina, uma vez que esta subunidade mutada fez com que a adjudina atuasse apenas nos testículos. (6,8) No entanto, a possibilidade de se desenvolverem autoanticorpos anti-FSH, o que pode comprometer a reversibilidade, (9) e o custo elevado desta abordagem atrasaram a progressão para estudos em humanos. (5) Por outro lado, também existe a possibilidade de conjugar a adjudina com outro agente que induza disrupção transitória da barreira hematotesticular, de forma a aumentar a sua biodisponibilidade. (10) Um destes agentes é o F5-péptido que perturba a barreira hematotesticular e facilita a entrada da adjudina. Para além disto, também se podem usar nanopartículas, que auxiliam no transporte da adjudina até aos testículos. Um dos tipos de partículas mais estudadas para este efeito são as nanopartículas de sílica mesoporosa que, contendo um núcleo magnético, são guiadas até ao órgão-alvo, uma vez que nos testículos se coloca um forte campo magnético (mais especificamente nas calças). (11)

O outro derivado, o **H2-gamendazole**, originou infertilidade completa em todos os ratos testados, no entanto, o retorno à fertilidade não foi completo. Para além disto, ainda que os níveis de testosterona não tivessem sofrido alterações, os níveis de FSH aumentaram ligeiramente. (12) Por outro lado, não foram detetados efeitos adversos com a dose que foi efetiva para bloquear a espermatogénese. No entanto, não se conhecem resultados de toxicidade aguda e subcrónica e têm de se realizar mais estudos antes de avançar para experiências futuras em humanos. (6)

As **indenopiridinas** (CDB-4022) são substâncias encontradas nos novos anti-histamínicos, cujas propriedades antiespermatogénicas foram descobertas por acaso. Os seus efeitos na espermatogénese parecem envolver as células germinativas e as células de Sertoli. (13) Em cães e ratos ocorreu depleção das células germinativas sem supressão das gonadotropinas, o que indica um efeito direto nos testículos. Não obstante, o mecanismo exato permanece desconhecido. Por outro lado, a administração de CDB-4022 a ratos originou um dano irreversível aos túbulos seminíferos, mas um pré-tratamento com acilina, um antagonista da hormona libertadora de gonadotropinas (GnRH), resultou em infertilidade reversível. (14) Entretanto, outro estudo em macacos demonstrou oligozoospermia severa com uma completa recuperação da fertilidade, sem alteração das concentrações de gonadotropinas e testosterona e sem toxicidade evidente. (15) Assim, mais estudos em animais são necessários para confirmar a segurança deste agente e o retorno da fertilidade antes de experimentar em humanos, (3) mas a evidência indica que o CDB-4022 é um bom candidato para contraceptivo masculino. (16)

O **JQ1** é uma pequena molécula que inibe a proteína BRDT, específica dos testículos, que é essencial para a remodelação da cromatina durante a espermatogénese. Estudos em ratos demonstraram que o JQ1 inibe reversivelmente e completamente a espermatogénese, reduzindo o número de espermatozoides e a sua mobilidade, não afeta o comportamento sexual nem a concentração das hormonas e não tem toxicidade aparente. De facto, os seus efeitos são específicos para as células germinativas e, por isso, não altera processos dependentes de

hormonas. (17) No entanto, este composto também altera outras proteínas semelhantes à BRDT, (5) pelo que estes resultados promissores apoiam o desenvolvimento de derivados que tenham uma maior afinidade e especificidade para a proteína BRDT, por forma a reduzir possíveis efeitos adversos a longo prazo. (3) Por outro lado, como as proteínas BRDT estão bem conservadas e são idênticas nos ratos e nos humanos, é lícito pensar em extrapolar estas descobertas para estudos na espécie humana, o que resultaria numa nova e eficaz estratégia de contraceção. De facto, os dados disponíveis apontam o JQ1 como o primeiro método contraceptivo que tem como alvo específica e reversivelmente a célula germinativa (17) e que parece ser um exemplo de uma nova geração de fármacos. (18)

O gossipol e o triptolide são extratos de plantas usados principalmente na China. O gossipol é um composto fenólico, derivado das sementes de algodão, que atua como um inibidor de várias desidrogenases e tem propriedades pró-apoptóticas, afetando tanto a espermatogénese como a mobilidade dos espermatozoides. (7) O **gossipol** foi um dos primeiros compostos a ser testado como método contraceptivo não hormonal (3) e, num dos estudos, causou oligozoospermia severa em 90% dos participantes. No entanto, em 20% dos homens, não houve retorno da fertilidade e noutros casos ocorreu hipocaliemia severa, o que fez com que a Organização Mundial de Saúde recomendasse a descontinuação de futuras investigações sobre o gossipol. (7)

O **triptolide** deriva da erva chinesa *Trypterigium wilfordii* e, tal como o gossipol, afeta tanto a própria espermatogénese como a mobilidade dos espermatozoides. No entanto, estudos demonstraram que o triptolide tem efeitos imunossupressores e que, para além disto, provoca infertilidade irreversível. (7) Assim, uma revisão sistemática acerca do gossipol e triptolide como métodos contraceptivos concluiu que nenhuma destas substâncias é eficaz ou segura. (19)

A vitamina A (retinol) é necessária para que ocorra uma espermatogénese normal. De facto, durante a puberdade, a vitamina A e o seu metabolito ativo (ácido retinoico) são necessários para a iniciação da espermatogénese e para a manutenção da mesma, durante a idade adulta. O ácido retinoico liga-se aos recetores de ácido retinoico (RAR) que regulam a expressão génica. Uma vez que os animais *RAR-knockout* são inférteis devido a vários problemas na espermatogénese, o bloqueio da função ou da síntese de ácido retinoico é uma oportunidade bastante apelativa para o desenvolvimento de um método contraceptivo. (5)

O **BMS-189453** é um antagonista oral não seletivo dos RAR. Em doses diárias orais de 15, 60 ou 240 mg/kg durante 1 mês, este agente induziu uma marcada degeneração testicular em ratos, mas também causou hepato e mielotoxicidade, ocorrendo um aumento das contagens de leucócitos e dos níveis da fosfatase alcalina e da alanina aminotransferase. Para além disto, a infertilidade acabou por ser irreversível. (20) No entanto, numa experiência em que se usaram doses menores, foi demonstrado que a infertilidade foi reversível e que houve diminuição da toxicidade. (21) Por outro lado, uma melhor compreensão dos recetores de ácido retinoico poderá ajudar a definir melhor os alvos para o desenvolvimento de métodos contraceptivos que

sejam mais seletivos e que, assim, atuem apenas nos testículos. (22) Efetivamente, o BMS-189453 ou um agente antagonista mais seletivo destes recetores é uma forte possibilidade de contraceção não hormonal masculina para o futuro. (5,7)

O WIN 18,446 é outro agente que demonstrou ser capaz de suprimir completa e reversivelmente a espermatogénese por meio da inibição da síntese de ácido retinoico pelos testículos (inibição da aldeído desidrogenase 1A2 específica dos testículos - ALDH1A2). No entanto, não é um candidato a método contracetivo, uma vez que os indivíduos apresentaram uma reação do tipo dissulfiram, com náuseas, vômitos, palpitações e sudorese, quando ingeriam álcool. Assim, a investigação no desenvolvimento de novos inibidores da síntese do ácido retinoico continua, principalmente naqueles que não causem esta reação e que não atuem noutros órgãos para além dos testículos. (5,22)

Para além da inibição farmacológica, a espermatogénese também pode ser suprimida através do aumento da temperatura dos testículos (bloqueio físico). A elevação da temperatura do escroto pode ser causada por vários fatores do quotidiano e foi identificada como uma forma de contraceção. Dentro destes fatores incluem-se doenças (varicocele e febre), exposição ocupacional a fontes de calor (fornos), exposição contínua a calor ligeiro (estar sentado à secretária ou em bancos aquecidos, conduzir veículos), tipo de roupa (roupa interior ou calças muito apertadas) e estilos/escolhas de vida (computadores portáteis, saunas, exercício físico). (23)

Neste grupo de contracetivos podem incluir-se duas formas de elevação da temperatura do escroto e, assim, bloqueio físico da produção de espermatozoides: o método de aquecimento e o uso de ultrassons.

Relativamente ao **método de aquecimento**, a elevação da temperatura dos testículos bloqueia a espermatogénese, uma vez que contribui para o aumento da apoptose das células germinativas. Para este efeito, podem ser usadas várias alternativas, nomeadamente banhos quentes e suspensórios (para manter os testículos no canal inguinal). Ambas as opções diminuem a concentração de espermatozoides de forma reversível. (7) Num estudo em que a aplicação de calor estava a ser usada como adjuvante à contraceção hormonal, foi verificado que no grupo de controlo (imersão do escroto em água a 43°C durante 30 minutos por dia em 6 dias consecutivos) houve efetivamente redução na concentração de espermatozoides em 3 semanas (redução máxima em 6 semanas), retorno total a níveis férteis em 12 semanas e não houve alterações nas concentrações de FSH, LH e testosterona circulantes. Contudo, nenhum destes indivíduos alcançou concentrações de espermatozoides inferiores a 3 milhões/mL. (24) Este é um tratamento com temperaturas ligeiras, sendo que temperaturas mais altas provocam maiores diminuições na concentração de espermatozoides, sem nunca se atingir azoospermia, pelo que este é um método considerado inconsistente e inseguro. (23) Num estudo mais recente com métodos muito semelhantes, houve redução da concentração de testosterona e da

mobilidade, concentração e morfologia normal dos espermatozoides, enquanto que as concentrações de FSH e LH aumentaram. (25)

Por outro lado, estudos com administração de **ultrassons** a testículos de animais mostraram redução reversível dos espermatozoides produzidos, sem alteração dos níveis de testosterona circulante, devido ao aumento transitório da temperatura dentro do escroto. (7) O uso de sons e ultrassons para atingir uma contraceção segura e eficaz é uma hipótese promissora, mas que carece de dados que a sustentem. A evidência atual sugere que a energia do som tem potencial contracetivo, podendo aumentar ou diminuir a mobilidade dos espermatozoides. Assim, a combinação de sons e ultrassons num só sistema é um potencial método com ação espermicida e, portanto, poderá tornar-se um contracetivo seguro e eficaz. No entanto, vários estudos são necessários para clarificar e documentar devidamente o uso desta modalidade como método contracetivo. (26)

### 3.1.2 Bloqueio da maturação e sobrevivência dos espermatozoides

Os métodos contracetivos que atuam ao nível do epidídimo têm como alvo os espermatozoides já formados, pelo que o objetivo é impedir a sua transferência para o líquido seminal ou torná-los inférteis. Assim, estes métodos possuem a vantagem teórica de terem um início de ação rápido e um rápido retorno da fertilidade quando interrompidos, podendo ser usados imediatamente antes do ato sexual. Vários agentes que interrompem o transporte dos espermatozoides no epidídimo atuam no sistema nervoso autónomo (simpaticomiméticos, simpaticolíticos, parassimpaticolíticos) e poderiam ter interesse como contracetivos. No entanto, muitos deles têm ação irreversível, apenas demonstraram ação em modelos não humanos, só têm ação teórica, apresentaram teratogenicidade ou têm muitos efeitos adversos desagradáveis. É o caso dos antagonistas dos recetores  $\alpha$ -1-adrenérgicos (fenoxibenzamina, prazosina, terazosina, doxazosina, alfuzosina, tansulosina, silodosina) e dos agonistas peptídicos (vasopressina, oxitocina, endotelina, angiotensina). (2,7)

Relativamente aos **antagonistas  $\alpha$ -1-adrenérgicos**, estes mostraram-se eficazes em alguns estudos na inibição da ejaculação de espermatozoides devido à inibição dos recetores adrenérgicos da musculatura do epidídimo e das vesículas seminais, impedindo as contrações rítmicas normais e, portanto, a ejaculação. (2) Para isto, foram feitos estudos com tansulosina 0,8 mg, havendo efetivamente redução da emissão de sémen, atingindo-se, assim, a contraceção. Deste modo, a tansulosina apresenta algumas vantagens, nomeadamente atingir efetivamente a contraceção, recuperação completa do volume de sémen e da quantidade e qualidade de esperma depois de interrupção da toma, pouca influência na libido e no orgasmo e não precisa de ser tomada regularmente, mas sim 4 a 6 horas antes do ato sexual (*on demand*), reduzindo o risco de efeitos adversos cumulativos a longo prazo. (27) No entanto, existem alguns efeitos laterais que devem ser tidos em conta, nomeadamente desconforto ejaculatório, tonturas e hipotensão ortostática. Desta forma, a tansulosina apresenta-se como uma boa

candidata a método contraceptivo, mas mais e maiores estudos necessitam de ser feitos para avaliar esta hipótese. (2,27)

A **N-butildesoxinojirimicina**, um inibidor da síntese de glicosfingolípido, provou ser bastante eficaz em ratos, provocando infertilidade irreversível através de alterações na mobilidade dos espermatozoides. (3,28) No entanto, o mesmo efeito não se observou em seres humanos. (29)

Os alvos moleculares específicos são uma área emergente de investigação da contraceção masculina. Um destes alvos é uma protease do epidídimo, **EPPIN**, uma proteína específica do trato reprodutor masculino que promove o normal funcionamento do líquido seminal através da interação com a semenogelina, formando um complexo que promove a sobrevivência dos espermatozoides no trato reprodutor feminino. (30) Um estudo demonstrou que 7 em cada 9 macacos (78%) foram eficazmente imunizados contra a proteína EPPIN, revelando títulos elevados de anticorpos anti-EPPIN, e demonstraram infertilidade reversível (em 71% dos indivíduos). (31) Entretanto, foram desenvolvidos pequenos compostos orgânicos que mimetizam o efeito dos anticorpos anti-EPPIN e que se ligam à superfície dos espermatozoides, inibindo a sua mobilidade. (32) Por outro lado, outra forma promissora de atingir a contraceção é a imunização combinada contra vários antígenos, nomeadamente a combinação de inibidores dos recetores de FSH e inibidores da EPPIN numa vacina contra a fertilidade que estimule a resposta humoral e a produção de anticorpos contra estes antígenos. Esta experiência em ratos resultou numa forte inibição da fertilidade e constitui um bom possível contraceptivo. (33) Contudo, estudos com inibição da EPPIN ainda só foram tentados em animais. (2)

Outro potencial alvo para a contraceção masculina presente no epidídimo é o **recetor HE6**, um recetor acoplado à proteína G que demonstra uma expressão preferencial pelo epidídimo. Ratos HE6 *knockout* têm uma redução marcada da fertilidade provavelmente por um defeito na reabsorção de fluidos dos testículos nos canais eferentes do epidídimo. Um estudo demonstrou que o recetor HE6 tem uma função importante na regulação do ambiente do lúmen dos canais eferentes e do epidídimo proximal. (34) Assim, o padrão de expressão favorável deste recetor, os estudos realizados em ratos *knockout* e a constatação de que a modulação da função deste recetor tem um efeito dramático na fertilidade favorecem a hipótese de o recetor HE6 ser um bom alvo para criação de um fármaco que o antagonize. (35)

Por outro lado, a **Crisp-1** é uma glicoproteína segregada pelo epitélio do epidídimo que inibe a capacitação dos espermatozoides e a fusão com o ócito em ratas e outros mamíferos. (3,36) Resultados de um estudo de fertilização *in vitro* indicam que espermatozoides sem Crisp-1 estão em desvantagem para interagir com a zona pelúcida e para se fundir com o ócito, sendo, no entanto, férteis. Esta constatação pode ser explicada por funções compensatórias de outras proteínas da família Crisp e tendo em conta que da mesma mutação podem surgir vários fenótipos diferentes, pelo que estes resultados não excluem a possibilidade de desenvolver um método contraceptivo que iniba a função da Crisp-1. (37) Estudos em primatas demonstraram

que a imunização com proteínas dos espermatozoides conduziu a uma inibição reversível da fertilidade nos animais com um título elevado de anticorpos. (38) Assim, a Crisp-1 é um alvo bastante apelativo para a contraceção (e até imun contraceção) masculina por diversas razões: expressão específica no epidídimo, regulação da função dos espermatozoides, papel na interação do espermatozoide com o óocito, localização na superfície do espermatozoide e acessibilidade a um ataque imunológico. (36,38) No entanto, são necessários mais estudos por forma a compreender melhor a função desta proteína e tentar uma abordagem contracetiva ou imun contracetiva. (36-38)

A mobilidade dos espermatozoides requer o trifosfato de adenosina, que é sintetizado através da glicólise aeróbia. A 3-fosfato desidrogenase específica dos espermatozoides é uma enzima muito importante para a glicólise dos espermatozoides, sendo que a sua disrupção torna os ratos inférteis. (39) A **gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH)** foi proposta como um excelente alvo de contraceção, particularmente se for seletivamente inibida sem bloquear a GAPDH encontrada em todos os tecidos. Várias pequenas moléculas inibitórias já foram identificadas. (40) Estudos provam que a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase específica dos espermatozoides pode ser inibida e que pequenos inibidores podem diminuir significativamente a glicólise dos espermatozoides e, assim, reduzir a mobilidade dos mesmos. (41) De facto, esta abordagem tem potencial para contraceção longa e de curta ação, no entanto, é necessário minimizar a reatividade cruzada e os efeitos adversos, atingir concentrações efetivas do fármaco nos testículos e/ou nos órgãos reprodutores femininos e otimizar a estrutura das moléculas inibitórias, recorrendo a química medicinal, por forma a melhorar a potência, seletividade e propriedades químicas destes fármacos. (3,41)

A Tabela 1 esquematiza, para proporcionar uma leitura mais fácil, alguns dos métodos abordados anteriormente.

Tabela 1 - Contracetivos não hormonais (42)

<i>Fármacos</i>	<i>Alvos</i>	<i>Mecanismos</i>	<i>Efeitos Adversos</i>
	<b>Testículo</b>		
Gossipol	Alvo específico desconhecido (supõe-se que seja nos túbulos seminíferos).	Inibidor da espermatogénese e da mobilidade do esperma através de stress oxidativo.	Irreversível. Infertilidade chega a 20%. Hipocaliemia dependente da dose.
Triptolide	Alvo específico desconhecido (supõe-se que seja nos túbulos seminíferos).	Desconhecidos.	Infertilidade irreversível.
Indenopiridinas	Alvo específico desconhecido (supõe-se que seja nas células de Sertoli).	Desconhecidos.	Infertilidade irreversível em algumas espécies.

Tabela 1 - Contracetivos não hormonais parte 2 (42)

Derivados da lonidamina	Junção das células de Sertoli com as células germinativas.	Disrupção da junção das células de Sertoli com as células germinativas, inibindo a maturação dos espermatozoides.	Inflamação do fígado, atrofia dos músculos. Infertilidade.
JQ1	Bromodomínio específico do testículo.	Debilitação da remodelação da cromatina durante a espermatogénese.	Nenhum verificado em ratos.
BMS-189453	Recetor de ácido retinoico.	Bloqueio da diferenciação das espermatogónias.	Nenhum verificado em doses reduzidas.
WIN 18,446	Aldeído desidrogenase 1A2 específica dos testículos (ALDH1A2).	Bloqueio da diferenciação das espermatogónias através da supressão da expressão de Stra8.	Reação dissulfiram semelhante ao álcool.
<b>Epidídimo</b>			
-	Recetor HE6 (proteína G associada ao recetor)	Defeito na reabsorção de fluidos testiculares nos canais do epidídimo.	Desconhecidos.
-	Crisp-1	Supressão da capacitação do esperma e inibição da fusão do espermatozoide com os oócitos em ratos e mamíferos.	Desconhecidos.
<b>Mobilidade do espermatozoide e fusão dos espermatozoides com o oócito</b>			
-	EPPIN	Ligação à proteína de coagulação dos espermatozoides, o que debilita a sua mobilidade.	Infertilidade irreversível imprevisível. Resposta do sistema imunitário variável.
N-butildesoxin-jirimicina	Inibidor da síntese de glicofosfolípidos (apenas em ratos)	Debilitação da mobilidade dos espermatozoides.	Sem efeito nos espermatozoides do Homem. Sintomas gastrointestinais e perda de peso.
	CatSpers	Mutação ou defeito do gene de CatSper inibe a hiperativação dos espermatozoides.	Mais nenhum fenótipo relatado nos ratos knockout.
	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH)	Inibição da glicólise específica de espermatozoides.	Múltiplos.

### 3.1.3 Interrupção do transporte dos espermatozoides

Em relação ao bloqueio mecânico do transporte dos espermatozoides, estes métodos impedem a passagem do esperma para o ejaculado e incluem a vasectomia, o RISUG (*reversible inhibition of sperm under guidance*, em português, inibição supervisionada reversível do esperma), o Vasalgel e os tampões intraluminais.

A **vasectomia** é, logo a seguir ao preservativo, o método contraceptivo mais utilizado pelos homens. É mais popular em sociedades mais avançadas e nos homens com maior educação devido principalmente a restrições religiosas e culturais. (43) O procedimento inclui a disseção dos canais deferentes seguida de laqueação e eletrocoagulação das duas extremidades selecionadas, uma técnica minimamente invasiva e altamente eficaz com taxa de falência inferior a 1% e reduzida taxa de complicações. (44) O sucesso da cirurgia é confirmado com a obtenção de azoospermia em espermograma, 3 meses após o procedimento. (7) As complicações a curto prazo incluem hemorragia, hematoma, infecção da ferida e epididimite, com uma taxa de 1 a 6%. (45) A principal complicação a longo prazo é a recanalização dos canais deferentes (0 a 3% dos casos). Para além disto, o aumento da pressão dentro do epidídimo pode provocar desconforto no escroto e rutura do epidídimo com extravasamento de líquido seminal, o que pode originar a formação de granulomas e o desenvolvimento de anticorpos antiespermatozoides no soro. (46) A principal desvantagem é a potencial irreversibilidade. (7) A taxa de homens operados que pretendem recuperar a fertilidade após a vasectomia é de aproximadamente 3,5% e está a aumentar como resultado de alterações nas sociedades modernas (aumento do número de divórcios e variabilidade no planeamento familiar), (47) o que pode ser resolvido (em 90% dos casos) com recurso a técnicas de anastomose microcirúrgicas (reversão da vasectomia ou vasovasostomia). (48) Em suma, pode considerar-se que a vasectomia é um método altamente efetivo e seguro. Os principais inconvenientes são o desconforto testicular crónico em alguns homens e a incapacidade de reversão da vasectomia em todos os homens que o desejem. (5)

O dispositivo indiano de oclusão dos canais deferentes, comumente chamado **RISUG**, é talvez um dos métodos mecânicos mais promissores, uma vez que já foi testado nas fases I e II na população indiana e confere uma contraceção efetiva até 10 anos após uma única aplicação. O procedimento consiste em injeção de estireno-anidrido maleico (SMA) dissolvido em dimetilsulfóxido que oclui bilateralmente os canais deferentes, induzindo infertilidade em 10 dias. O SMA oclui parcialmente os canais deferentes e ainda induz transformações morfológicas nos espermatozoides que o atravessam. Uma única aplicação é rapidamente efetiva, tem poucos efeitos adversos e é facilmente revertida com a injeção de dimetilsulfóxido ou bicarbonato de sódio nos canais deferentes, o que causa a expulsão do RISUG pela uretra. (49) Alguns estudos demonstraram que durante 1 ano de seguimento não foram reportadas gravidezes. Os efeitos adversos incluem edema testicular ligeiro e dor que resolvem dentro de 15 dias. (50) Contrariamente à vasectomia, o RISUG não causa granulomas nem uma resposta

autoimune. No entanto, existem algumas preocupações no que diz respeito a potenciais efeitos tóxicos e teratogenicidade. O SMA reduz o pH, o que faz com que ocorram danos, degeneração e alterações morfológicas nos espermatozoides por contacto. Num estudo em macacos langur que foram submetidos à implantação do RISUG, os espermatozoides apresentaram várias alterações morfológicas. (49) Para além disto, num estudo de fase II, também se verificaram alterações semelhantes e estes espermatozoides que conseguiram atravessar o RISUG eram imóveis. (50) Por outro lado, também existem questões acerca dos efeitos nos órgãos reprodutivos: de facto, num estudo em macacos langur, as células de Sertoli demonstraram vacuolização, os túbulos seminíferos encolheram e as espermátides desenvolveram degeneração da membrana nuclear e vacuolização. (51)

O **Vasalgel** é um polímero desenvolvido nos Estados Unidos da América muito semelhante ao RISUG. É constituído por estireno-ácido maleico dissolvido em dimetilsulfóxido e, comparativamente ao RISUG, não tem efeitos espermicidas e é descrito como um tampão impenetrável aos espermatozoides. (2) Assim como o RISUG, a alta viscosidade da solução do Vasalgel requer uma quantidade significativa de pressão por forma a introduzir corretamente o material no lúmen estreito do canal deferente, com os potenciais danos associados a infiltração da parede do canal ou sob a bainha. Contudo, não há relatos de efeitos do Vasalgel noutros tecidos genitourinários para além dos canais deferentes. (52) Tal como o RISUG, também este polímero pode ser facilmente revertido com injeção de uma solução no canal deferente que dissolva este material. No entanto, ainda não existem estudos que comprovem o retorno à fertilidade e que estimem a taxa de gravidezes depois de reverter o efeito do Vasalgel. (2)

A abordagem cirúrgica para implantação do RISUG e do Vasalgel é semelhante à da tradicional vasectomia, requerendo exteriorização do canal deferente. (2) O principal mecanismo de atuação destes métodos é através da prevenção da passagem dos espermatozoides para o ejaculado, pelo que podem ser consideradas alternativas reversíveis da vasectomia. Os estudos de fase III têm sido atrasados pela falta de investimento e de voluntários. (53)

Já houve várias tentativas de atingir oclusão dos canais deferentes através de **abordagens percutâneas**, em vez de exteriorizar os canais (como acontece com a vasectomia, RISUG e Vasalgel). O método percutâneo apresentaria várias vantagens, nomeadamente menor invasibilidade e menos complicações, como edema, hematomas e infeções, quando comparado com o método cirúrgico. Para além disto, as abordagens não-cirúrgicas são sempre mais apelativas, o que aumenta a aceitabilidade e uso destes métodos contraceptivos. (54)

Existem 2 tipos de **tampões injetáveis intraluminais** que já foram testados: poliuretano e resina de silicone. Os tampões de poliuretano foram testados na China em estudos de larga escala (o maior com 12000 homens), em que 98% dos indivíduos atingiram azoospermia. (55) No entanto, foram necessários 18 a 24 meses de utilização para atingir este nível de eficiência. Os tampões de resina de silicone não se mostraram tão promissores, com apenas 80% de taxa de

azoospermia. (56) A introdução destes tampões é simples, sem serem necessárias incisões cirúrgicas, e com uma baixa taxa de complicações. A remoção do material traduz-se em retorno à fertilidade em cerca de 2 a 4 anos em aproximadamente 85% dos homens. Estas técnicas têm a vantagem de poderem ser facilmente repetidas, uma vez que tanto a introdução como a remoção ocorrem sem danos substanciais. (57) No entanto, ainda não está inequivocamente provado que a resina de silicone não interfira significativamente na fisiologia do canal deferente. Assim, são necessários mais estudos para comprovar a segurança destes procedimentos. (53)

Vários anos a estudar métodos de oclusão dos canais deferentes demonstraram que o contraceptivo de oclusão ideal dever ter algumas características: ser facilmente implantado por um único médico, não sofrer migração pelo canal, bloquear efetivamente a passagem dos espermatozoides, ser reversível (através de dissolução ou de um procedimento *minor*) e ter poucos efeitos histológicos permanentes nos canais deferentes, nos espermatozoides e nos tecidos geniturinários em geral. Por agora, ainda nenhum destes métodos foi aprovado, mas se se conseguirem cumprir todos estes critérios, estes dispositivos poderão ser a primeira classe de contraceptivos não hormonais, reversíveis e de longa duração. (2)

Em relação ao bloqueio farmacológico da emissão de espermatozoides, os agonistas peptídicos estão presentes na musculatura peritubular do epidídimo humano. Assim, agonistas ou antagonistas peptídicos podem afetar o transporte dos espermatozoides pelo epidídimo pela paralisia do canal deferente aquando da ejaculação. (23)

### 3.1.4 Outros métodos

Nesta subsecção abordam-se os métodos contraceptivos que não se incluem em nenhuma das categorias anteriormente referidas.

O **coito interrompido** é um dos métodos utilizados há mais tempo e tem as vantagens de não ter efeitos adversos e ter custo zero. No entanto, requer destreza, autodisciplina, reduz o prazer sexual e está associado a uma taxa de falência elevada, com 19 gravidezes por cada 100 casais. (1)

A **abstinência sexual periódica** é muito utilizada no âmbito de um planeamento familiar natural e limita a atividade sexual aos dias seguros, em que a probabilidade de ocorrer fecundação é mais baixa. Ainda que dependa muito de observações do ciclo feminino, é necessária uma contribuição masculina. A segurança deste método aumenta com o maior número de dias de abstinência sexual. (1) Contudo, a taxa de falência ainda é grande, com estudos a relatar 20 gravidezes por cada 100 casais por ano (58) e outros referem mesmo que 45% engravidam. (59)

O **coito anal** é um método pouco abordado na literatura científica e que é, por si só, autoexplicativo.

O **preservativo** tem sido usado como método contraceptivo e como proteção contra infecções sexualmente transmissíveis há várias centenas de anos, sendo relativamente livre de efeitos adversos. A maioria dos preservativos são feitos de látex, mas também existem os de poliuretano (menos eficazes) para os indivíduos com alergia ao látex. (5) A principal desvantagem é a baixa eficácia contraceptiva devido a uso indevido e a rutura. (60) A taxa de gravidezes associada ao uso do preservativo como método contraceptivo é de 15 a 20% por ano. (61) Por outro lado, alguns homens referem diminuição do prazer sexual e dificuldade em usar o preservativo (62) e existem indivíduos que desenvolvem alergia ao látex, o que causa irritação cutânea e, mais raramente, anafilaxia. (63)

Os **espermicidas** são de uso vaginal e, por isso, são considerados contraceptivos femininos. Contêm detergentes que destroem as membranas dos espermatozoides, mas também afetam a parede vaginal. (23) Têm uma alta taxa de falência (superior a 20%). (61)

## 3.2 Métodos Hormonais

Pelo menos um quarto dos homens, e nalguns países mais, consideram a possibilidade de usar um método contraceptivo hormonal. De facto, injeções intramusculares a cada 1 ou 3 meses, implantes subcutâneos a cada 3 meses ou géis transdérmicos aplicados diariamente são esquemas aceitáveis. Por outro lado, vários estudos confirmam a efetividade, reversibilidade e segurança dos métodos hormonais. (42)

O objetivo destes métodos é a inibição do eixo hipotálamo-hipófise-testicular e, assim, suprimir a produção de LH e FSH, diminuir a testosterona intratesticular e interromper a espermatogénese, reduzindo a concentração de espermatozoides (se possível atingindo-se azoospermia ou, pelo menos, para um valor baixo o suficiente por forma a conferir proteção contraceptiva - <1 milhão de espermatozoides por mL de ejaculado) e, por fim, substituir a testosterona periférica por forma a manter uma adequada androgenização. De facto, não é possível interromper a espermatogénese sem interferir com a produção de androgénios. Ainda que a supressão da LH e da FSH origine azoospermia, surgem sintomas de carência androgénica (disfunção erétil, alteração da libido, do comportamento e de processos metabólicos). Assim, a inibição das gonadotropinas necessitaria de administração de androgénios. (64) Por outro lado, uma dose elevada de testosterona está associada a efeitos secundários desagradáveis, tais como acne, aumento do hematócrito e diminuição do colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade). Por estes motivos, é importante tentar manter os níveis de testosterona sérica dentro do intervalo fisiológico. (3)

Efetivamente, poder-se-ia pensar que a testosterona fosse o contraceptivo de eleição, uma vez que inibe a libertação de gonadotropinas e também mantém a androgenização. No entanto, vários estudos demonstram que só dois terços dos homens caucasianos atingem a azoospermia com a administração isolada de testosterona. Assim, é necessário adicionar outro agente que iniba a libertação de gonadotropinas, nomeadamente análogos da GnRH e outros esteroides em várias combinações e diferentes vias de administração. (64)

Ainda que o objetivo seja atingir a azoospermia, esta é muito difícil de quantificar e, para além disso, impossível de obter em todos os indivíduos que participam nos estudos. (65) Contudo, considerando a oligozoospermia severa atingida, a taxa de insucesso do uso de um contraceptivo hormonal masculino como único método é comparável à do uso de um contraceptivo hormonal feminino. (4) Por outro lado, existem diferenças consoante a etnia na resposta a estes métodos. De facto, os homens asiáticos atingem taxas de azoospermia muito superiores em relação aos europeus, norte-americanos e australianos e não existe uma adequada explicação para esta diferença. (5)

Neste subcapítulo serão referidos apenas superficialmente vários métodos e combinações hormonais, dando maior relevo aos métodos mais promissores. Assim, inicialmente será abordada a administração de androgénios de forma isolada (3.2.1), em seguida a combinação

de androgénios e gestagénios (3.2.2), outras combinações (3.2.3) e, por fim, riscos e benefícios dos métodos hormonais (3.2.4).

### 3.2.1 Androgénios isolados

Através de um mecanismo de *feedback* negativo, a testosterona inibe a secreção de LH e FSH, o que interrompe a espermatogénese e, portanto, faz com que a concentração de espermatozoides diminua na maioria dos homens após 3 a 4 meses da administração. Quando interrompida a toma da testosterona, a contagem de espermatozoides volta ao normal em 3 a 6 meses na maioria dos homens. (66)

A administração de testosterona não esterificada por via oral ou parentérica não é eficaz, uma vez que é rapidamente degradada pelo fígado. (5) Assim, existem várias formas de administração da testosterona, nomeadamente o enantato, buciclato, undecanoato, 19-nortestosterona e 7 $\alpha$ -metil-19-nortestosterona. Para além disto, há várias vias de administração, como a oral, intramuscular, transdérmica e implantes (*pellets*). (64)

De facto, para que se atinja um nível adequado de supressão da espermatogénese, é necessária uma elevada dose de testosterona. Posto isto, surgem preocupações relativas aos efeitos a longo prazo na saúde dos indivíduos, nomeadamente no que concerne ao risco cardiovascular e às doenças prostáticas. Sabe-se que a administração exógena de androgénios associa-se a ganho de peso e diminuição do colesterol HDL. No entanto, também se observa diminuição do colesterol total e LDL (lipoproteína de baixa densidade), melhorando, desta forma, o risco cardiovascular. (7) Por outro lado, relativamente ao risco de malignidade para a próstata, os dados ainda são contraditórios e a maior parte dos estudos é realizada em jovens e durante um curto intervalo de tempo. (67) Por fim, também se observou o desenvolvimento de acne e melhoria da satisfação e da função sexual. (68)

### 3.2.2 Combinação de androgénios e gestagénios

Com o objetivo de atingir taxas de azoospermia superiores, muitos estudos associaram a testosterona a progestinas, que atuam na hipófise e nos testículos, inibindo a libertação da LH e FSH e parecendo suprimir diretamente a espermatogénese, ainda que o mecanismo seja pouco conhecido. (69) Assim, vários agentes têm sido experimentados, nomeadamente levonorgestrel, etonogestrel, desogestrel, nesterona, enantato de noretisterona, acetato de medroxiprogesterona e acetato de ciproterona. (4,70) Os vários estudos demonstraram que a taxa de supressão da espermatogénese é aumentada quando se combina uma progestina com a testosterona, sendo mesmo comparável à taxa de azoospermia atingida após a vasectomia. (71) Outra vantagem é a necessidade de doses de testosterona menores sem compromisso da efetividade, diminuindo, assim, os efeitos adversos, como acne e queda de cabelo. (70)

A combinação de nesterona e testosterona transdérmicas tem demonstrado resultados aliciantes. A nesterona é um derivado da 19-norprogesterona sem atividade androgénica, estrogénica ou glicocorticoide, o que, ao contrário de outras progestinas, torna menos provável a sua associação com efeitos adversos. (72) De facto, um estudo piloto inicial em que se combinaram a testosterona e a nesterona em forma de géis transdérmicos em aplicação diária durante 20 dias demonstrou supressão das gonadotropinas sem efeitos adversos significativos. (73) Noutro estudo semelhante durante 6 meses, 89% dos homens atingiram uma concentração de espermatozoides igual ou inferior a 1 milhão/mL. (74) Para além disto, a combinação foi muito bem tolerada e muitos indivíduos afirmaram que usariam este esquema se fosse comercializado. (75) Uma combinação testosterona-nesterona simplificada e melhorada está a ser desenvolvida e poderá representar um método contraceptivo promissor. (3-5,70)

Para além destes agentes, o mais promissor parece ser o undecanoato de dimetandrolona (DMAU), uma vez que se trata de um 19-norandrogénio sintético potente que é hidrolisado para dimetandrolona, que, por sua vez, atua nos recetores de androgénios e progesterona, sendo, por isso, um potencial contraceptivo de um só agente. (76) O DMAU pode ser administrado por via oral e intramuscular. (5) Um estudo de fase I demonstrou que este agente é seguro, reversível e bem tolerado. (77) Outro estudo em ratos demonstrou efeitos anabolizantes favoráveis, como manutenção da massa muscular e da densidade óssea e prevenção da acumulação de massa gorda e de ganho de peso. (3) Contudo, o DMAU não é aromatizado e, por isso, o estado metabólico, sexual e dos ossos tem de ser cuidadosamente avaliado. (42)

No entanto, existem algumas desvantagens em relação à combinação de androgénios e progestinas, nomeadamente dependendo da via de administração. A via oral está associada a uma ação pró-aterogénica, ao contrário da transdérmica (implantes). (78) Por outro lado, um estudo demonstrou que estas substâncias podem provocar hipogonadismo, diminuição da concentração de hemoglobina e da sensibilidade à insulina e aumento dos marcadores inflamatórios. (79) O risco cardiovascular também depende da progestina escolhida, principalmente da capacidade de ligação aos recetores da progesterona e os seus efeitos androgénicos. Assim, os resultados disponíveis sugerem que as progestinas são o componente que mais contribui para o agravamento dos fatores de risco metabólicos para a doença aterosclerótica cardíaca. (80)

### 3.2.3 Outras combinações

Para além das opções referidas em cima, também é possível associar a testosterona aos inibidores da 5 $\alpha$ -redutase, que inibem a conversão de testosterona em di-hidrotestosterona. De facto, teoricamente, esta combinação poderia aumentar a eficácia da testosterona e, ao mesmo tempo, neutralizar os efeitos desta hormona na próstata. No entanto, este facto não foi observado nos estudos realizados. (81)

Os agonistas ou antagonistas da GnRH também são outra possibilidade de associação, uma vez que inibem a liberação da LH e FSH. No entanto, não foram demonstradas melhorias na taxa de azoospermia desta combinação quando comparada ao regime em que se adiciona uma progestina à testosterona. (70) Assim, e atendendo à necessidade de administração parentérica e alto custo, estes fatores fazem com que estes agentes sejam pouco práticos como métodos contraceptivos. (7) No entanto, o desenvolvimento de antagonistas não peptídicos administrados oralmente ou implantes de liberação lenta pode abrir uma nova porta na investigação destes agentes como métodos contraceptivos. (82,83)

A Tabela 2 esquematiza e resume algumas das características fundamentais dos métodos anteriormente abordados.

Tabela 2 - Características dos métodos hormonais (3)

<i>Preparação</i>	<i>Características Principais</i>
Apenas testosterona (injeções, <i>pellets</i> , gel)	Necessárias doses elevadas que provocam efeitos secundários; níveis relativamente baixos de azoospermia, especialmente em caucasianos.
Com levonorgestrel	Eficácia elevada; alterações do colesterol HDL; opções orais e de implantes.
Com etonogestrel	Formulação de implantes; efeitos metabólicos reduzidos.
Com enantato de noretisterona	Injetáveis de longa duração; potencial para coformulação de undecanoato de testosterona.
Com acetato de medroxiprogesterona	Utilizado com <i>pellets</i> e gel de testosterona; duração de ação prolongada ocasional.
Com nestorona	Novo progestagénio não-androgénico.
Com acetato de ciproterona	Atividade não-androgénica; pode ser relevante para efeitos metabólicos e eficácia contraceptiva.
Com antagonistas da GnRH	Péptidos, logo requerem injeção frequente; elevado custo em comparação com progestagénios; sem efeitos metabólicos; potencialmente útil para uso na supressão inicial da espermatogénese.

### 3.2.4 Riscos e benefícios dos métodos hormonais

Como todos os métodos contraceptivos, também os hormonais têm vantagens e desvantagens e devem ser cuidadosamente avaliados. No entanto, os estudos que têm sido realizados não excedem 2 anos e meio de utilização destes agentes, o que limita a compreensão dos riscos e benefícios. Contudo, sabe-se que o uso de testosterona em doses suprafisiológicas provoca aumento da massa muscular, diminuição da massa gorda e aumento da função sexual, o que tem menor probabilidade de acontecer quando se usam doses menores de testosterona. (70) Para além destes efeitos adversos, também ocorre acne, mudanças no peso corporal, alterações mínimas na ficha lipídica (diminuição do colesterol HDL, LDL e total), mudanças de humor e da libido, suores noturnos e aumento da densidade mineral óssea. (70,84) Assim, até à data, nenhum estudo demonstrou aumento da morbidade cardiovascular ou dos eventos tromboembólicos. No entanto, são necessários estudos mais alargados e de maior duração para aferir o risco cardiovascular, entre outros parâmetros. (70)

Por outro lado, nem todos os indivíduos respondem da mesma forma aos métodos hormonais, sendo que alguns (de 5 a 20%) podem não responder. (7) É muito difícil identificar aqueles que não vão responder ao tratamento *a priori*, uma vez que estes apresentam níveis pré-terapêuticos de gonadotropinas e testosterona semelhantes aos que respondem e também não parece estar relacionado com os níveis de 5 $\alpha$ -redutase. (85) Um estudo indicou que os indivíduos que não respondem apresentam níveis mais altos de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 3 (IGF-3), mas não foi estabelecida uma relação causal. (86) Para além disto, também se demonstrou que homens obesos têm maior probabilidade de não responder ao tratamento (87) e que um polimorfismo genético no primeiro exão do recetor de androgénios está associado a uma diminuição da sensibilidade aos androgénios e, assim, uma redução da eficácia destes métodos. (88) Outra possibilidade é que um processo de produção residual de androgénios não dependente de gonadotropinas mantenha um nível baixo de espermatogénese. (89)

Como já referido, homens asiáticos respondem melhor ao tratamento, atingindo taxas maiores de azoospermia. Uma explicação possível é o facto de terem menos massa gorda, o que faz com que a mesma dose de testosterona seja mais efetiva. (7) No entanto, faltam dados sobre a eficácia da contraceção hormonal em homens de origem hispânica e africana e, portanto, são necessários estudos com populações mais diversas e durante um maior período de tempo. (42)

Em relação à recuperação da espermatogénese após interrupção da contraceção hormonal, vários estudos demonstram níveis normais de mobilidade, morfologia e concentração de espermatozoides após dois anos (67% dos homens recupera a espermatogénese aos 6 meses, 90% aos 12 e 100% aos 24 meses), o que se traduz em gravidezes efetivas. (66)

No que toca à relação entre a administração da testosterona e o cancro da próstata, ainda restam muitas dúvidas. Embora não pareça haver risco acrescido (90), são necessários mais

estudos com amostragens mais amplas e com seguimento mais longo. Do mesmo modo, sintomas do trato urinário inferior não parecem ser agravados pela toma de testosterona, contudo também esta questão necessita de ser avaliada de uma forma mais aprofundada. (42)

Outra questão importante que também foi estudada é o risco fetal devido ao uso de métodos hormonais. Embora não pareça haver risco para um potencial feto devido à preservação da integridade da barreira hematotesticular, (91) não se pode excluir com certeza a possibilidade de que a contraceção hormonal aumente as taxas de malformações congénitas. (42)

Em suma, uma vez que ainda não há estudos com duração suficiente sobre estes regimes de contraceção hormonal, não se pode concluir que sejam seguros. Em relação ao risco cardiovascular, ainda que os dados disponíveis até à data sejam favoráveis, mais estudos, com maior duração e com população mais jovem devem ser realizados. Por outro lado, a escolha da progestina utilizada também é um passo fundamental, uma vez que estas substâncias aumentam a coagulação sanguínea e a inflamação. (80) Para todos estes parâmetros, e ainda para os restantes acima referidos, são necessários mais estudos antes de se prosseguir neste campo. De todos os métodos e combinações hormonais disponíveis e apresentados, o DMAU e a combinação testosterona com nesterona parecem ser os mais promissores.

### 3.3 Perspetivas e Reflexões Futuras

A área da contraceção é um terreno de permanente descoberta, com avanços e recuos constantes. A contraceção masculina, em particular, é uma área em que já se fizeram grandes avanços, mas que ainda tem muito espaço para evoluir.

De facto, é necessário expandir os estudos clínicos, incluindo neles homens com concentração, mobilidade e morfologia dos espermatozoides abaixo do normal, em vez de indivíduos com todos estes parâmetros dentro da normalidade, até porque ambos os grupos têm interesse em usar estes potenciais métodos contraceptivos. (70)

Por outro lado, ainda não se sabe ao certo as razões de alguns indivíduos responderem eficazmente e atingirem a azoospermia e de outros não alcançarem os resultados esperados, pelo que mais estudos são necessários na tentativa de esclarecer estas diferenças. (7)

O desenvolvimento de um método contraceptivo masculino de toma diária estará sujeito às mesmas preocupações e problemas de adesão que um contraceptivo feminino. Assim, o uso típico destes esquemas ficará muito aquém do uso perfeito, o que se reflete numa limitação da efetividade do método. De facto, a escolha de métodos implantáveis ou injetáveis é preferível na medida em que contorna o problema da falta de adesão dos métodos diários e as suas taxas de efetividade aproximam-se das taxas associadas ao uso perfeito dos métodos orais. Assim, a história dos padrões de uso e de efetividade dos contraceptivos femininos pode ajudar a guiar o desenvolvimento dos métodos masculinos e sugere que, ainda que muitas vezes os métodos diários sejam preferidos, os de longa duração são mais efetivos. No entanto, e para suprir todos os gostos e preferências, atualmente estão a ser desenvolvidos vários tipos de contraceptivos hormonais masculinos: géis diários, injeções de longa duração (semanas a meses) e implantes (até um ano). (70)

Os canais de iões CatSpers são uma família de canais permeáveis ao cálcio únicos nos espermatozoides. O fluxo de cálcio por estes canais provoca hiperativação dos referidos gâmetas. (92) A disrupção dos genes que codificam estes canais provoca infertilidade nos ratos, com uma marcada diminuição da mobilidade dos espermatozoides e incapacidade de fertilizar os oócitos. Para além disto, mutações ou deleções destes canais estão associadas a infertilidade nos humanos. (93) Assim, por serem canais específicos dos espermatozoides, os CatSpers são alvos muito atrativos para desenvolvimento de inibidores específicos. Por outro lado, estas moléculas poderão facilitar a contraceção masculina consoante as necessidades, uma vez que atuam numa fase tardia da fertilização e podem ser utilizadas pelo homem ou pela mulher diretamente no trato genital. (3)

Outra abordagem promissora baseia-se na interferência da interação espermatozoide-oócito. Os espermatozoides têm uma enzima, a N-acetil-beta-D-hexosaminidase tipo B, que cliva as glicoproteínas da zona pelúcida do oócito. (7) O uso *in vitro* de análogos das glicoproteínas da

zona pelúcida para bloquear a N-acetil-beta-D-hexosaminidase tipo B dos espermatozoides dos roedores e dos bovinos teve uma eficácia de 98% na falência da fertilização, (94) enquanto *in vivo* a taxa é inferior, (95) mas sem efeitos adversos e com reversão da infertilidade uma semana após a interrupção do tratamento. (7)

Para além disto, o desenvolvimento da proteómica possibilita a descoberta de novos alvos nos espermatozoides, o que auxilia a criação de métodos contraceptivos. O facto de os espermatozoides serem ricos em proteínas de membrana (em comparação com outras células) e que a produção de proteínas se interrompe no estadio de espermátides facilita o estudo do perfil de proteínas destas células. (96)

Por fim, no caso de ser impossível prever a não-supressão da fertilidade, uma abordagem alternativa passaria pela verificação da supressão adequada em todos os homens antes de se confiar completamente nestes métodos contraceptivos. Existem testes, já aprovados e utilizados, para confirmar azoospermia depois da vasectomia, que podem ser realizados em casa para garantir a infertilidade. (42)

Neste sentido, é pertinente abordar a questão da realização de um espermograma prévio à instituição de um contraceptivo masculino. Com efeito, a análise do sémen trata-se de um procedimento simples que pode identificar indivíduos azospérmicos e que, deste modo, não irão beneficiar da realização destes métodos contraceptivos. Assim, evitar-se-iam efeitos adversos associados a esta medicação e a iatrogenia medicamentosa decorrente. No entanto, seria necessário confirmar várias vezes os resultados e abordar as consequências de rotular um indivíduo e, conseqüentemente, um casal como infértil.



## 4 Conclusão

A contraceção é essencial para evitar gravidezes indesejadas. Como parte integrante do casal, o homem também deve e deseja, cada vez mais, participar ativamente no planeamento familiar. De facto, 30% dos casais utilizam métodos masculinos (preservativo e vasectomia), (5) uma percentagem que provavelmente aumentaria se existissem outras alternativas. Com este intuito, várias tentativas têm sido feitas e experimentadas por forma a criar um método contraceptivo eficaz, seguro e reversível que substitua finalmente o preservativo e a vasectomia.

De facto, a espermatogénese é um processo complexo e mediado por vários intervenientes e reações dos quais é necessário obter um conhecimento mais aprofundado. No entanto, tratando-se de um processo com tantos intervenientes, surge uma panóplia de possíveis alvos para intervir e, idealmente, atingir a infertilidade. Efetivamente, no que diz respeito à contraceção não hormonal, existem vários métodos promissores. Em relação ao bloqueio da espermatogénese, os derivados da lonidamina, adjudina e H2-gamendazole, as indenopiridinas, o JQ1 e o BMS-189453 são bons candidatos a métodos contraceptivos. Por outro lado, a EPPIN, o recetor HE6, a Crisp-1 e a gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase são alvos interessantes para impulsionar o desenvolvimento de fármacos que bloqueiem a maturação e sobrevivência dos espermatozoides. Relativamente à interrupção do transporte dos espermatozoides, o Vasalgel, o RISUG e outros métodos de oclusão são bastante promissores neste campo. Assim, os métodos não hormonais apresentam-se como boas hipóteses futuras, mas são necessários mais e mais amplos estudos e investigações na população humana para determinar a sua real eficácia na evicção de gravidezes indesejadas.

Por outro lado, atingir a infertilidade com a utilização de hormonas é um facto bastante conhecido e estudado. Na área hormonal da contraceção, as hipóteses mais promissoras são o DMAU e a utilização dos géis de testosterona e nestorona transdérmicos. No entanto, são necessários mais estudos, uma vez que nem todos os homens respondem à supressão hormonal e é importante esmiuçar melhor os efeitos adversos a longo prazo, (5) recorrendo a estudos mais completos e representativos.

No entanto, para verificar os paralelismos entre as experiências com ratos e o que realmente acontece na população humana e realizar estudos mais abrangentes e com uma maior amostragem é necessário que haja interesse e financiamento. De facto, até agora, a maioria dos estudos abrange uma pequena amostra da população e, muitas vezes, aquela também é pouco representativa. Assim, torna-se necessário que haja investimento nesta área, tanto por parte da indústria farmacêutica como de outras entidades, por forma a serem feitos estudos melhores e, em última instância, contribuir para o desenvolvimento e introdução no mercado de contraceptivos masculinos.

Nos últimos anos o progresso nesta área tem sido lento, apesar do interesse crescente pelo desenvolvimento de um método contraceptivo masculino seguro, eficaz e reversível. Um exemplo disto é a criação recente do Consórcio Internacional para a Contraceção Masculina. (5) No entanto, enquanto não houver interesse e investimento da parte da indústria farmacêutica, a população continuará a crescer, as gravidezes indesejadas continuarão a representar praticamente 50% de todas as gestações (70) e as mulheres continuarão a carregar o fardo da contraceção e do planeamento familiar.

## 5 Bibliografia

1. Nieschlag E. Male contribution to contraception. In: *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction*. 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. p. 557-64.
2. Khourdaji I, Zillioux J, Eisenfrats K, Foley D, Smith R. The future of male contraception: a fertile ground. *Transl Androl Urol*. 2018 May;7(Suppl 2):S220-35.
3. Chao J, Page ST, Anderson RA. Male contraception. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2014 Aug;28(6):845-57.
4. Roth M, Amory J. Beyond the Condom: Frontiers in Male Contraception. *Semin Reprod Med*. 2016 Mar 4;34(03):183-90.
5. Amory JK. Male contraception. *Fertil Steril*. 2016 Nov;106(6):1303-9.
6. Mok KW, Mruk DD, Lie PPY, Lui WY, Cheng CY. Adjudin, a potential male contraceptive, exerts its effects locally in the seminiferous epithelium of mammalian testes. Vol. 141, *Reproduction*. NIH Public Access; 2011. p. 571-80.
7. Kanakis GA, Goulis DD. Male contraception: A clinically-oriented review. Vol. 14, *Hormones*. Athens: Springer International Publishing; 2015. p. 598-614.
8. Mruk DD, Wong C-H, Silvestrini B, Cheng CY. A male contraceptive targeting germ cell adhesion. *Nat Med*. 2006 Nov 29;12(11):1323-8.
9. Page ST, Amory JK, Bremner WJ. Advances in male contraception. *Endocr Rev*. 2008 Jun;29(4):465-93.
10. Cheng Y-H, Xia W, Wong EWP, Xie QR, Shao J, Liu T, et al. Adjudin--A Male Contraceptive with Other Biological Activities. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2015;9(2):63-73.
11. Chen H, Mruk DD, Xia W, Bonanomi M, Silvestrini B, Cheng C-Y. Effective Delivery of Male Contraceptives Behind the Blood-Testis Barrier (BTB) - Lesson from Adjudin. *Curr Med Chem*. 2016;23(7):701-13.
12. Tash JS, Attardi B, Hild SA, Chakrasali R, Jakkraj SR, Georg GI. A Novel Potent Indazole Carboxylic Acid Derivative Blocks Spermatogenesis and Is Contraceptive in Rats after a Single Oral Dose. *Biol Reprod*. 2008 Jun 1;78(6):1127-38.
13. Ann Hild S, Reel JR, Larner JM, Blye RP. Disruption of Spermatogenesis and Sertoli Cell

- Structure and Function by the Indenopyridine CDB-4022 in Rats<sup>1</sup>. *Biol Reprod.* 2001 Dec 1;65(6):1771-9.
14. Hild SA, Attardi BJ, Reel JR. The Ability of a Gonadotropin-Releasing Hormone Antagonist, Acyline, to Prevent Irreversible Infertility Induced by the Indenopyridine, CDB-4022, in Adult Male Rats: The Role of Testosterone<sup>1</sup>. *Biol Reprod.* 2004 Jul 1;71(1):348-58.
  15. Hild SA, Marshall GR, Attardi BJ, Hess RA, Schlatt S, Simorangkir DR, et al. Development of *l*-CDB-4022 as a Nonsteroidal Male Oral Contraceptive: Induction and Recovery from Severe Oligospermia in the Adult Male Cynomolgus Monkey ( *Macaca fascicularis* ). *Endocrinology.* 2007 Apr 1;148(4):1784-96.
  16. Pozor MA, Macpherson ML, McDonnell SM, Nollin M, Roser JF, Love C, et al. Indenopyridine derivative RTI-4587-073(l): A candidate for male contraception in stallions. *Theriogenology.* 2013 Dec 1;80(9):1006-16.
  17. Matzuk MM, McKeown MR, Filippakopoulos P, Li Q, Ma L, Agno JE, et al. Small-Molecule Inhibition of BRDT for Male Contraception. *Cell.* 2012 Aug 17;150(4):673-84.
  18. Zdrojewicz Z, Konieczny R, Papier P, Szten F. Brdt Bromodomains Inhibitors and Other Modern Means of Male Contraception. *Adv Clin Exp Med.* 2015;24(4):705-14.
  19. Lopez LM, Grimes DA, Schulz KF. Nonhormonal Drugs for Contraception in Men: A Systematic Review. *Obstet Gynecol Surv.* 2005 Nov;60(11):746-52.
  20. Schulze GE, Clay RJ, Mezza LE, Bregman CL, Buroker RA, Frantz JD. BMS-189453, a Novel Retinoid Receptor Antagonist, Is a Potent Testicular Toxin. *Toxicol Sci.* 2001 Feb 1;59(2):297-308.
  21. Chung SSW, Wang X, Roberts SS, Griffey SM, Reczek PR, Wolgemuth DJ. Oral Administration of a Retinoic Acid Receptor Antagonist Reversibly Inhibits Spermatogenesis in Mice. *Endocrinology.* 2011 Jun;152(6):2492-502.
  22. Hogarth CA, Amory JK, Griswold MD. Inhibiting vitamin A metabolism as an approach to male contraception. *Trends Endocrinol Metab.* 2011 Apr;22(4):136-44.
  23. Cooper TG, Yeung C-H. Pharmacological Approaches to Male Contraception. In: *Andrology.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. p. 589-99.
  24. Wang C, Cui Y-G, Wang X-H, Jia Y, Sinha Hikim A, Lue Y-H, et al. Transient Scrotal Hyperthermia and Levonorgestrel Enhance Testosterone-Induced Spermatogenesis Suppression in Men through Increased Germ Cell Apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab.*

2007 Aug;92(8):3292-304.

25. Zhang M-H, Zhai L-P, Fang Z-Y, Li A-N, Xiao W, Qiu Y. Effect of scrotal heating on sperm quality, seminal biochemical substances, and reproductive hormones in human fertile men. *J Cell Biochem.* 2018 Dec 1;119(12):10228-38.
26. Sewak R, Teng B, Learman LA, Hennekens CH. Male contraception: Prospects for sound and ultrasound. *Med Hypotheses.* 2017 Sep;107:1-4.
27. Wang J, Zhao Y, Jiang S, Xia Q, Wei C, Wang M, et al. Assessment of Tamsulosin as a Potential Male Contraceptive in Healthy Volunteers. *Urology.* 2012 Sep;80(3):614-7.
28. van der Spoel AC, Jeyakumar M, Butters TD, Charlton HM, Moore HD, Dwek RA, et al. Reversible infertility in male mice after oral administration of alkylated imino sugars: a nonhormonal approach to male contraception. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Dec 24;99(26):17173-8.
29. Amory JK, Muller CH, Page ST, Leifke E, Pagel ER, Bhandari A, et al. Miglustat has no apparent effect on spermatogenesis in normal men. *Hum Reprod.* 2007 Mar;22(3):702-7.
30. Silva EJR, Hamil KG, Richardson RT, O'Rand MG. Characterization of EPPIN's semenogelin I binding site: a contraceptive drug target. *Biol Reprod.* 2012 Sep;87(3):56.
31. O'Rand MG, Widgren EE, Sivashanmugam P, Richardson RT, Hall SH, French FS, et al. Reversible Immunocontraception in Male Monkeys Immunized with Eppin. *Science (80- )*. 2004 Nov 12;306(5699):1189-90.
32. O'Rand MG, Silva EJR, Hamil KG. Non-hormonal male contraception: A review and development of an Eppin based contraceptive. *Pharmacol Ther.* 2016 Jan;157:105-11.
33. Yan P, He W, Wu Y, Chen Z, He H, Ni B, et al. Enhanced Suppression of Fertility Can be Achieved by Priming with FSHR and Eppin and Further Boosting with Their B-cell Epitope Peptides. *Am J Reprod Immunol.* 2015 Aug;74(2):156-68.
34. Davies B, Baumann C, Kirchhoff C, Ivell R, Nubbemeyer R, Habenicht U-F, et al. Targeted Deletion of the Epididymal Receptor HE6 Results in Fluid Dysregulation and Male Infertility. *Mol Cell Biol.* 2004 Oct 1;24(19):8642-8.
35. Gottwald U, Davies B, Fritsch M, Habenicht UF. New approaches for male fertility control: HE6 as an example of a putative target. *Mol Cell Endocrinol.* 2006 May 16;250(1-2):49-57.
36. Roberts KP, Ensrud KM, Wooters JL, Nolan MA, Johnston DS, Hamilton DW. Epididymal

- secreted protein Crisp-1 and sperm function. *Mol Cell Endocrinol.* 2006 May 16;250(1-2):122-7.
37. Da Ros VG, Maldera JA, Willis WD, Cohen DJ, Goulding EH, Gelman DM, et al. Impaired sperm fertilizing ability in mice lacking Cysteine-Rich Secretory Protein 1 (CRISP1). *Dev Biol.* 2008 Aug 1;320(1):12-8.
  38. Ellerman DA, Cohen DJ, Weigel Muñoz M, Da Ros VG, Ernesto JI, Tollner TL, et al. Immunologic behavior of human cysteine-rich secretory protein 1 (hCRISP1) in primates: prospects for immunocontraception. *Fertil Steril.* 2010 May 15;93(8):2551-6.
  39. Miki K, Qu W, Goulding EH, Willis WD, Bunch DO, Strader LF, et al. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-S, a sperm-specific glycolytic enzyme, is required for sperm motility and male fertility. *Proc Natl Acad Sci.* 2004 Nov 23;101(47):16501-6.
  40. Sexton JZ, Danshina P V, Lamson DR, Hughes M, House AJ, Yeh L-A, et al. Development and Implementation of a High Throughput Screen for the Human Sperm-Specific Isoform of Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDHS). *Curr Chem Genomics.* 2011 Jul 4;5:30-41.
  41. Danshina P V, Qu W, Temple BR, Rojas RJ, Miley MJ, Machius M, et al. Structural analyses to identify selective inhibitors of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-S, a sperm-specific glycolytic enzyme. *Mol Hum Reprod.* 2016 Jun;22(6):410-26.
  42. Piotrowska K, Wang C, Swerdloff RS, Liu PY. Male hormonal contraception: hope and promise. *lancet Diabetes Endocrinol.* 2017 Mar;5(3):214-23.
  43. Rizvi SA, Naqvi SA, Hussain Z. Ethical issues in male sterilization in developing countries. *Br J Urol.* 1995 Nov;76 Suppl 2:103-5.
  44. Trussell J, Hatcher RA, Cates WJ, Stewart FH, Kost K. Contraceptive failure in the United States: an update. *Stud Fam Plann.* 1990;21(1):51-4.
  45. Schwingl PJ, Guess HA. Safety and effectiveness of vasectomy. *Fertil Steril.* 2000 May;73(5):923-36.
  46. Goldstein M. Vasectomy failure using an open-ended technique. *Fertil Steril.* 1983 Nov;40(5):699-700.
  47. Cos LR, Valvo JR, Davis RS, Cockett AT. Vasovasostomy: current state of the art. *Urology.* 1983 Dec;22(6):567-75.
  48. Goldstein M, Li PS, Matthews GJ. Microsurgical vasovasostomy: the microdot technique of precision suture placement. *J Urol.* 1998 Jan;159(1):188-90.

49. Lohiya NK, Alam I, Hussain M, Khan SR, Ansari AS. RISUG: an intravasal injectable male contraceptive. *Indian J Med Res.* 2014 Nov;140(Suppl 1):S63-72.
50. Guha SK, Singh G, Ansari S, Kumar S, Srivastava A, Koul V, et al. Phase II clinical trial of a vas deferens injectable contraceptive for the male. *Contraception.* 1997 Oct 1;56(4):245-50.
51. Mishra PK, Manivannan B, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, Panneerdoss S, et al. Status of spermatogenesis and sperm parameters in langur monkeys following long-term vas occlusion with styrene maleic anhydride. *J Androl.* 2003;24(4):501-9.
52. Colagross-Schouten A, Lemoy M-J, Keesler RI, Lissner E, VandeVoort CA. The contraceptive efficacy of intravas injection of Vasalgel™ for adult male rhesus monkeys. *Basic Clin Androl.* 2017 Feb 7;27(1):4.
53. Frankiewicz M, Połom W, Matuszewski M. Can the evolution of male contraception lead to a revolution? Review of the current state of knowledge. *Cent Eur J Urol.* 2018;71(1):108-13.
54. Zambon J V, Barone MA, Pollack AE, Mehta M. Efficacy of percutaneous vas occlusion compared with conventional vasectomy. *BJU Int.* 2000 Oct;86(6):699-705; discussion 705-6.
55. Zhao SC. Vas deferens occlusion by percutaneous injection of polyurethane elastomer plugs: clinical experience and reversibility. *Contraception.* 1990 May;41(5):453-9.
56. Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N. Vas deferens, a site of male contraception: an overview. *Asian J Androl.* 2001 Jun;3(2):87-95.
57. Zhao SC, Lian YH, Yu RC, Zhang SP. Recovery of fertility after removal of polyurethane plugs from the human vas deferens occluded for up to 5 years. *Int J Androl.* 1992 Dec;15(6):465-7.
58. Trussell J, Rodríguez G, Ellertson C. New estimates of the effectiveness of the Yuzpe regimen of emergency contraception. *Contraception.* 1998 Jun;57(6):363-9.
59. Knuth U, Mühlentstedt D. Kinderwunschdauer, kontrazeptives Verhalten und Rate vorausgegangener Infertilitätsbehandlungen. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1991 Sep 16;51(9):678-84.
60. D'Anna LH, Korosteleva O, Warner L, Douglas J, Paul S, Metcalf C, et al. Factors Associated With Condom Use Problems During Vaginal Sex With Main and Non-Main Partners. *Sex Transm Dis.* 2012 Sep;39(9):687-93.

61. Fu H, Darroch JE, Haas T, Ranjit N. Contraceptive failure rates: new estimates from the 1995 National Survey of Family Growth. *Fam Plann Perspect.* 1999;31(2):56-63.
62. Newby K V, Brown KE, French DP, Wallace LM. Which outcome expectancies are important in determining young adults' intentions to use condoms with casual sexual partners? A cross-sectional study. *BMC Public Health.* 2013 Feb 13;13(1):133.
63. Levy DA, Khouader S, Leynadier F. Allergy to latex condoms. *Allergy.* 1998 Nov;53(11):1107-8.
64. Nieschlag E, Behre HM. Approaches to Hormonal Male Contraception. In: *Andrology.* 3rd ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. p. 577-87.
65. Cooper TG, Hellenkemper B, Jonckheere J, Callewaert N, Grootenhuis AJ, Kersemaekers WM, et al. Azoospermia: virtual reality or possible to quantify? *J Androl.* 2006 Apr 5;27(4):483-90.
66. Liu PY, Swerdloff RS, Christenson PD, Handelsman DJ, Wang C, Hormonal Male Contraception Summit Group. Rate, extent, and modifiers of spermatogenic recovery after hormonal male contraception: an integrated analysis. *Lancet.* 2006 Apr 29;367(9520):1412-20.
67. Raynaud J-P. Prostate cancer risk in testosterone-treated men. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006 Dec;102(1-5):261-6.
68. Sjögren B, Gottlieb C. Testosterone for male contraception during one year: attitudes, well-being and quality of sex life. *Contraception.* 2001 Jul;64(1):59-65.
69. Meriggiola MC, Bremner WJ. Progestin-androgen combination regimens for male contraception. *J Androl.* 1997;18(3):240-4.
70. Roth MY, Page ST, Bremner WJ. Male hormonal contraception: looking back and moving forward. *Andrology.* 2016 Jan;4(1):4-12.
71. Marwood RP, Beral V. Disappearance of spermatozoa from ejaculate after vasectomy. *Br Med J.* 1979 Jan 13;1(6156):87.
72. Kumar N, Koide SS, Tsong Y, Sundaram K. Nestorone: a progestin with a unique pharmacological profile. *Steroids.* 2000;65(10-11):629-36.
73. Mahabadi V, Amory JK, Swerdloff RS, Bremner WJ, Page ST, Sitruk-Ware R, et al. Combined Transdermal Testosterone Gel and the Progestin Nestorone Suppresses Serum Gonadotropins in Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jul;94(7):2313-20.

74. Ilani N, Roth MY, Amory JK, Swerdloff RS, Dart C, Page ST, et al. A New Combination of Testosterone and Nestorone Transdermal Gels for Male Hormonal Contraception. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Oct;97(10):3476-86.
75. Roth MY, Shih G, Ilani N, Wang C, Page ST, Bremner WJ, et al. Acceptability of a transdermal gel-based male hormonal contraceptive in a randomized controlled trial. *Contraception.* 2014 Oct;90(4):407-12.
76. Attardi BJ, Hild SA, Reel JR. Dimethandrolone undecanoate: a new potent orally active androgen with progestational activity. *Endocrinology.* 2006 Jun;147(6):3016-26.
77. Surampudi P, Page ST, Swerdloff RS, Nya-Ngatchou JJ, Liu PY, Amory JK, et al. Single, escalating dose pharmacokinetics, safety and food effects of a new oral androgen dimethandrolone undecanoate in man: a prototype oral male hormonal contraceptive. *Andrology.* 2014 Jul;2(4):579-87.
78. Anderson RA, Kinniburgh D, Baird DT. Suppression of spermatogenesis by etonogestrel implants with depot testosterone: Potential for long-acting male contraception. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Aug;87(8):3640-9.
79. Zitzmann M, Rohayem J, Raidt J, Kliesch S, Kumar N, Sitruk-Ware R, et al. Impact of various progestins with or without transdermal testosterone on gonadotropin levels for non-invasive hormonal male contraception: a randomized clinical trial. *Andrology.* 2017 May;5(3):516-26.
80. Zitzmann M. Would male hormonal contraceptives affect cardiovascular risk? *Asian J Androl.* 2018;20(2):145-8.
81. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Miller GJ, Ford LG, et al. The Influence of Finasteride on the Development of Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 2003 Jul 17;349(3):215-24.
82. Struthers RS, Xie Q, Sullivan SK, Reinhart GJ, Kohout TA, Zhu YF, et al. Pharmacological characterization of a novel nonpeptide antagonist of the human gonadotropin-releasing hormone receptor, NBI-42902. *Endocrinology.* 2007 Feb;148(2):857-67.
83. Schlegel PN. Efficacy and safety of histrelin subdermal implant in patients with advanced prostate cancer. *J Urol.* 2006 Apr;175(4):1353-8.
84. Mommers E, Kersemaekers WM, Elliesen J, Kepers M, Apter D, Behre HM, et al. Male hormonal contraception: A double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Jul;93(7):2572-80.

85. Amory JK, Anawalt BD, Bremner WJ, Matsumoto AM. Daily testosterone and gonadotropin levels are similar in azoospermic and nonazoospermic normal men administered weekly testosterone: Implications for male contraceptive development. *J Androl.* 2001;22(6):1053-60.
86. Amory JK, Page ST, Anawalt BD, Coviello AD, Matsumoto AM, Bremner WJ. Elevated end-of-treatment serum INSL3 is associated with failure to completely suppress spermatogenesis in men receiving male hormonal contraception. *J Androl.* 2007 Feb 21;28(4):548-54.
87. Kornmann B, Nieschlag E, Zitzmann M, Gromoll J, Simoni M, Von Eckardstein S. Body fat content and testosterone pharmacokinetics determine gonadotropin suppression after intramuscular injections of testosterone preparations in normal men. *J Androl.* 2009 Sep;30(5):602-13.
88. Eckardstein S V, Schmidt A, Kamischke A, Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E. CAG repeat length in the androgen receptor gene and gonadotrophin suppression influence the effectiveness of hormonal male contraception. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002 Nov;57(5):647-55.
89. Zhang F-P, Pakarainen T, Poutanen M, Toppari J, Huhtaniemi I. The low gonadotropin-independent constitutive production of testicular testosterone is sufficient to maintain spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Nov 11;100(23):13692-7.
90. Mostaghel EA, Lin DW, Amory JK, Wright JL, Marck BT, Nelson PS, et al. Impact of male hormonal contraception on prostate androgens and androgen action in healthy men: A randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Aug;97(8):2809-17.
91. Ilani N, Armanious N, Lue YH, Swerdloff RS, Baravarian S, Adler A, et al. Integrity of the blood-testis barrier in healthy men after suppression of spermatogenesis with testosterone and levonorgestrel. *Hum Reprod.* 2012 Dec;27(12):3403-11.
92. Ren D. Sperm and the Proton Channel. *N Engl J Med.* 2010 May 20;362(20):2010-1.
93. Lishko P V., Kirichok Y, Ren D, Navarro B, Chung J-J, Clapham DE. The Control of Male Fertility by Spermatozoan Ion Channels. *Annu Rev Physiol.* 2012 Mar 17;74(1):453-75.
94. Hall JC, Perez FM, Kochins JG, Pettersen CA, Li Y, Tubbs CE, et al. Quantification and localization of N-acetyl-beta-D-hexosaminidase in the adult rat testis and epididymis. *Biol Reprod.* 1996 Apr;54(4):914-29.
95. Tassi C, Angelini A, Beccari T, Capodicasa E. Fluorimetric determination of activity and isoenzyme composition of N-acetyl-B-D-hexosaminidase in seminal plasma of fertile men

and infertile patients with secretory azoospermia. *Clin Chem Lab Med.* 2006 Jan 1;44(7):843-7.

96. Rahman MS, Lee J-S, Kwon W-S, Pang M-G. Sperm Proteomics: Road to Male Fertility and Contraception. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:1-11.