

Potencial do canabidiol (CBD) como aditivo antioxidante na criopreservação de sêmen caprino

Yasmim Nayara Pereira da Silva¹, Beatriz Belfort Neves², Yuri Tavares de Carvalho³, Eliana Nunes Pereira⁴, Deize Bácsy Rodrigues dos Santos⁴, Maira Maria Meira das Chagas⁵, Rafael Artur da Silva Júnior^{6*}

¹ Biomédica, Centro Universitário Brasileiro, Brasil.

² Médica Veterinária, Centro Universitário Brasileiro, Brasil.

³ Discente bacharelado em medicina veterinária, Centro Universitário Brasileiro, Brasil.

⁴ Mestre em Biociência Animal, UFRPE, Brasil

⁵ Médica Veterinária especialista, Centro Universitário Brasileiro, Brasil.

⁶ Doutor em Ciência Veterinária, Centro Universitário Brasileiro, Brasil. (*Autor correspondente: rafael.artur@grupounibra.com)

Histórico do Artigo: Submetido em: 08/04/2026 – Revisado em: 12/07/2026 – Aceito em: 19/09/2026

RESUMO

A caprinocultura leiteira possui grande relevância socioeconômica no Brasil, especialmente na região Nordeste, e a criopreservação de sêmen representa uma ferramenta essencial para o melhoramento genético por meio da inseminação artificial. No entanto, os processos de congelamento e descongelamento induzem estresse oxidativo, comprometendo a funcionalidade espermática. Nesse contexto, o canabidiol (CBD), composto bioativo da *Cannabis sativa* com reconhecidas propriedades antioxidantes, tem sido proposto como potencial aditivo em meios de criopreservação. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de diferentes concentrações de CBD ao diluidor sobre a qualidade do sêmen caprino pós-descongelamento. Foram utilizados quatro ejaculados viáveis, os quais foram agrupados em pool, diluídos com CBD nas concentrações de 0; 0,5; 2,5 e 5 µM, envasados em palhetas e submetidos ao congelamento lento convencional. Após o descongelamento, as amostras foram avaliadas quanto à motilidade, padrões de movimento espermático por sistema computadorizado CASA e integridade das membranas plasmática e acrossomal. Os resultados demonstraram que a adição de CBD não promoveu melhora na qualidade espermática, sendo observada redução da motilidade total e progressiva, comprometimento dos parâmetros cinemáticos e diminuição da integridade das membranas plasmática e acrossomal nos grupos tratados, quando comparados ao controle. Conclui-se que, nas concentrações avaliadas, o CBD não exerceu efeito protetor durante a criopreservação do sêmen caprino, ressaltando a necessidade de cautela na sua aplicação e de novos estudos para elucidar concentrações seguras e estratégias alternativas de uso.

Palavras-Chaves: Cannabis sativa, congelamento lento, pequenos ruminantes, tecnologia de reprodução assistida.

Potential of cannabidiol (CBD) as an antioxidant additive in goat semen cryopreservation.

ABSTRACT

Dairy goat farming has great socioeconomic relevance in Brazil, especially in the Northeast region, and semen cryopreservation represents an essential tool for genetic improvement through artificial insemination. However, freezing and thawing processes induce oxidative stress, compromising sperm functionality. In this context, cannabidiol (CBD), a bioactive compound of *Cannabis sativa* with recognized antioxidant properties, has been proposed as a potential additive in cryopreservation media. The objective of this study was to evaluate the effects of adding different concentrations of CBD to the extender on post-thaw goat semen quality. Four viable ejaculates were used, which were pooled, diluted with CBD at concentrations of 0, 0.5, 2.5, and 5 µM, packaged into straws, and subjected to conventional slow freezing. After thawing, the samples were evaluated for motility, sperm movement patterns using a computer-assisted sperm analysis (CASA) system, and plasma and acrosomal membrane integrity. The results showed that the addition of CBD did not promote improvement in sperm quality, with a reduction in total and progressive motility, impairment of kinematic parameters, and a significant decrease in plasma and acrosomal membrane integrity in the treated groups compared to the control. It is concluded that, at the evaluated concentrations, CBD did not exert a protective effect during goat semen cryopreservation, highlighting the need for caution in its application and for further studies to elucidate safe concentrations and alternative strategies for its use.

Keywords: Cannabis sativa, slow freezing, small ruminants, assisted reproductive technology.

Silva YNP, Neves BB, Carvalho YT, Chagas MMM, Silva Júnior RA. Potencial do canabidiol (CBD) como aditivo antioxidante na criopreservação de sêmen caprino. *Revista Universitária Brasileira*. 2026;4(5):26 – 34.



1. Introdução

A caprinocultura leiteira vem ganhando destaque em todo o mundo, não apenas por gerar renda e exigir baixos investimentos, mas também pela crescente valorização do leite de cabra e seus derivados no mercado, devido às suas características nutricionais e ao elevado valor agregado. Em 2017, estimava-se uma população global de aproximadamente 218 milhões de cabras leiteiras¹. Nesse contexto, o Brasil possuía um rebanho de cerca de 8,2 milhões de caprinos, correspondendo a 3,78% do rebanho mundial. A região Nordeste concentrava aproximadamente 82% desse contingente e, no mesmo ano, a produção nacional de leite de cabra foi estimada em 25 milhões de litros².

Apesar da relevância socioeconômica do setor, a caprinocultura leiteira no Brasil ainda apresenta limitações expressivas, sobretudo relacionadas à baixa produtividade e eficiência dos sistemas de produção. Esses entraves estão associados, principalmente, a problemas sanitários, deficiências nutricionais, práticas inadequadas de manejo e, especialmente, à ineficiência dos programas de melhoramento genético dos rebanhos.

Nesse cenário, as biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial (IA) e os programas de superovulação e transferência de embriões (SOTE), surgem como estratégias fundamentais para impulsionar o desenvolvimento da caprinocultura. A utilização da IA associada à criopreservação de sêmen representa uma ferramenta de alto impacto para a disseminação de material genético superior, promovendo o melhoramento dos rebanhos e contribuindo para o aumento da produtividade. Além disso, essa técnica auxilia na preservação de raças e populações ameaçadas, viabiliza o uso do material genético de animais mesmo após sua morte ou perda de fertilidade e reduz os riscos sanitários relacionados ao transporte de animais vivos^{3,4}.

Entretanto, apesar dos avanços obtidos, a criopreservação de sêmen ainda enfrenta desafios importantes. O processo pode provocar danos físicos e bioquímicos às células espermáticas, especialmente pela formação de cristais de gelo e alterações osmóticas durante as fases de congelamento e descongelamento, comprometendo a viabilidade e a fertilidade dos espermatozoides^{5, 6, 7}.

O estresse oxidativo é um dos principais fatores limitantes na eficiência da criopreservação espermática, sendo responsável por danos irreversíveis à integridade estrutural e funcional dos espermatozoides^{8, 9}.

Durante o congelamento e descongelamento, ocorre um aumento expressivo na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que levam à peroxidação lipídica das membranas plasmática e mitocondrial, afetando diretamente a motilidade e a viabilidade espermática^{10, 11}.

Nesse contexto, a utilização de antioxidantes naturais em protocolos de criopreservação torna-se uma estratégia promissora para mitigar esses danos¹². O canabidiol (CBD), composto bioativo encontrado no óleo essencial da *Cannabis sativa*, apresenta comprovada capacidade antioxidante por atuar como captador direto de radicais livres e modulador de vias endógenas de defesa antioxidante, como a ativação do fator de transcrição Nrf2^{13, 14}. Estudos *in vitro* demonstraram que o CBD reduz significativamente os níveis de peroxidação lipídica e preserva a integridade de membranas celulares em diferentes tipos celulares^{15, 16}. A aplicação do óleo essencial de CBD como aditivo antioxidante em meios de diluição de sêmen antes da criopreservação representa, portanto, uma inovação biotecnológica com potencial para preservar a viabilidade espermática e melhorar os índices reprodutivos em pequenos ruminantes.

Além disso, o uso de compostos naturais e bioativos como o CBD alinha-se às tendências atuais da produção animal sustentável e ao uso racional de aditivos seguros e eficazes em protocolos reprodutivos¹⁷. Diante disso, o objetivo desse trabalho é avaliar os efeitos da adição do CBD ao diluidor de sêmen caprino a base de leite desnatado no processo de criopreservação.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Hospital Escola Veterinário da UNIBRA (HEVU), localizado em Aldeia – Camaragibe (-7.967295, -35.011438). Os animais utilizados foram selecionados com base em critérios específicos, incluindo idade entre 2 e 4 anos e histórico reprodutivo satisfatório.

A coleta de sêmen foi realizada semanalmente, utilizando o método de vagina artificial e uma fêmea como manequim, foram coletados 4 ejaculados viáveis por animal (Figura 1). Após a coleta, os ejaculados foram mantidos em banho-maria a 37°C e submetidos à avaliação de parâmetros físicos e morfológicos em microscopia óptica, conforme as diretrizes do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal¹⁸. As avaliações incluíram volume do ejaculado, aspecto, turbilhonamento espermático, motilidade progressiva, vigor espermático, e concentração espermática por mL e total.

Figura 1 – Coleta de sêmen caprino com a utilização de vagina artificial e fêmea manequim.
Figure 1 - Collection of goat semen using an artificial vagina and a teaser female.



Fonte: Arquivo pessoal, 2025
Source: Personal archive, 2025.

Os ejaculados que atenderam aos padrões mínimos estabelecidos pelo CBRA (2013) foram submetidos à formação de um pool e diluídos em meio à base de leite desnatado suplementado com extrato de CBD nas concentrações de 0; 0,5; 2,5 e 5 μ M (Grupos controle, T1, T2 e T3, respectivamente). A diluição final foi ajustada para uma concentração de 200 milhões de espermatozoides por mL. Posteriormente, as amostras foram envasadas manualmente em palhetas de 0,25 mL, devidamente identificadas conforme o grupo experimental correspondente (Figura 2, a;b).

As palhetas foram submetidas a um período de estabilização de duas horas a 5°C, em geladeira, dispostas horizontalmente sobre bandejas de aço teladas. Após essa estabilização, as bandejas foram posicionadas a 5 cm do nível do nitrogênio líquido, apoiadas sobre um suporte de alumínio. Após 20 minutos de exposição ao vapor de nitrogênio, as palhetas foram imersas em nitrogênio líquido. Finalizado o processo de congelamento, as palhetas foram armazenadas em raques e mantidas em canisters de um botijão criobiológico até o momento do descongelamento (Figura 2, c;d).

Figura 2 – Identificação, envase e congelamento de palhetas de sêmen caprino após diluição com adição de diferentes concentrações de CBD.

Figure 1 - Identification, filling, and freezing of goat semen straws after dilution with the addition of different concentrations of CBD.



(a) Separação dos grupos e identificação das palhetas; (b) Envase das amostras nas palhetas; (c) Exposição das palhetas ao vapor do nitrogênio; (d) Imersão das palhetas no nitrogênio líquido.

Fonte: Arquivo pessoal, 2025
Source: Personal archive, 2025.

As palhetas foram descongeladas em banho-maria a 37 °C por 30 segundos e incubadas por 5 minutos à mesma temperatura. Em seguida, as amostras foram avaliadas quanto à cinética espermática por sistema computadorizado (CASA), além da integridade das membranas plasmática e acrossomal e do potencial de membrana mitocondrial, por microscopia de epifluorescência.

Para a análise no CASA, uma alíquota de sêmen foi diluída em meio livre de glicerol, ajustada para 50×10^6 espermatozoides/mL e incubada a 37 °C por 5 minutos. Posteriormente, uma amostra foi depositada em lâmina previamente aquecida, coberta com lamínula e analisada em microscópio de contraste de fase acoplado ao sistema CASA.

Foram avaliados cinco campos aleatórios por amostra, com no mínimo 500 espermatozoides. Os parâmetros analisados incluíram motilidade total e progressiva, linearidade, retilinearidade, velocidades espermáticas (VCL, VSL e VAP), amplitude do deslocamento lateral da cabeça (ALH) e frequência de batimento flagelar (BCF).

A integridade da membrana plasmática foi avaliada pelo método de dupla coloração com os fluorocromos DCF e iodeto de propídio (PI), conforme descrito por Silva et al. ¹⁹. Para cada amostra, uma alíquota de sêmen foi diluída em solução Tris contendo os fluorocromos e incubada por 10 minutos a 25 °C. Em seguida, as amostras foram analisadas em microscópio de epifluorescência, utilizando filtros específicos de excitação e emissão.

Foram avaliadas 200 células por lâmina, sob aumento de 400×. Espermatozoides corados em verde foram considerados com membrana íntegra, enquanto aqueles corados em vermelho foram classificados como portadores de membrana plasmática danificada.

A integridade da membrana acrossomal foi avaliada utilizando o fluorocromo FITC-PNA, conforme descrito por Silva et al. ¹⁹. Alíquotas de sêmen foram utilizadas para a confecção de esfregaços, que foram corados com FITC-PNA e incubados em câmara úmida a 4 °C por 15 minutos, na ausência de luz. Em seguida, as lâminas foram lavadas em PBS, secas ao ar e preparadas com solução antifade antes da análise.

Foram avaliadas 200 células por lâmina em microscopia de epifluorescência (1000×). Espermatozoides com acrossomo íntegro apresentaram fluorescência verde na região acrossomal, enquanto aqueles com

reação acrossômica apresentaram fluorescência restrita à região equatorial ou ausência de marcação no acrossomo.

3. Resultados e Discussão

A análise computadorizada da motilidade espermática (CASA) evidenciou diferenças marcantes entre o grupo controle e os grupos tratados com o uso de CBD após o descongelamento do sêmen caprino (Tabela 1). O grupo controle apresentou motilidade total de 48,7%, com 21,1% de espermatozoides progressivos, valores compatíveis com padrões mínimos recomendados para sêmen caprino criopreservado. Em contraste, os grupos tratados com CBD (T1 – 0,5 μ M; T2 – 2,5 μ M; T3 – 5 μ M) apresentaram redução acentuada da motilidade total e progressiva, sendo observada predominância de células imóveis.

Nos grupos T1, T2 e T3, a motilidade progressiva foi inferior a 2%, com percentuais de células imóveis superiores a 85%, indicando comprometimento severo da capacidade de deslocamento espermático. Esses resultados sugerem que, nas concentrações testadas, o CBD não exerceu efeito protetor sobre os mecanismos associados à motilidade espermática durante a criopreservação, podendo inclusive apresentar efeito deletério em concentrações mais elevadas.

Tabela 1 – Motilidade espermática e padrões de progressão pós-descongelamento em sêmen caprino criopreservado com diferentes concentrações de CBD.

Table 1 – Sperm motility and progression patterns post-thaw in goat semen cryopreserved with different concentrations of CBD.

Grupo	Motilidade Total (%)	Motilidade Progressiva (%)	Não progressivos (%)	Imóveis (%)
Controle (0 μ M)	48,7	21,1	27,6	51,3
T1 (0,5 μ M CBD)	8,2	1,6	6,6	91,8
T2 (2,5 μ M CBD)	13,7	0,7	13,0	86,3
T3 (5 μ M CBD)	12,7	1,7	11,0	87,3

A análise dos parâmetros cinemáticos reforça esse achado (Tabela 2). O grupo controle apresentou maiores valores médios de VCL, VSL e VAP, associados a trajetórias mais rápidas e eficientes, enquanto os grupos tratados exibiram redução significativa dessas variáveis. Além disso, índices como linearidade (LIN), retilinearidade (STR) e oscilação (WOB) foram consistentemente inferiores nos tratamentos com CBD, indicando movimentos menos coordenados e maior perda da funcionalidade espermática.

Tabela 2 - Parâmetros cinemáticos espermáticos pós-descongelamento avaliados por CASA
Table 2 - Post-thaw sperm kinematic parameters evaluated by CASA.

Grupo	VCL (μ m/s)	VSL (μ m/s)	VAP (μ m/s)	LIN (%)	STR (%)
Controle	53,9	39,7	45,2	73,8	87,9
T1 (0,5 μ M)	55,5	32,1	36,6	57,7	87,7
T2 (2,5 μ M)	53,6	24,2	30,0	45,3	80,9
T3 (5 μ M)	45,2	21,1	27,4	46,6	77,0

VCL: velocidade curvilinear; VSL: velocidade retilínea; VAP: velocidade média do percurso; LIN: linearidade; STR: retilinearidade. Os grupos tratados com CBD apresentaram redução dos parâmetros associados à eficiência do movimento espermático.

Resultados semelhantes foram descritos por estudos que avaliaram compostos bioativos com potencial antioxidante em sêmen criopreservado, nos quais concentrações inadequadas podendo desencadear efeitos pró-oxidantes ou interferir negativamente na fluidez da membrana plasmática e na função

mitocondrial, comprometendo a motilidade espermática, conforme observado por Borges et al.¹⁹. Além disso, o equilíbrio redox é altamente sensível durante a criopreservação, sendo que tanto o excesso quanto a deficiência de antioxidantes podem resultar em prejuízos à funcionalidade espermática²⁰.

A avaliação da integridade da membrana plasmática revelou diferenças expressivas entre os grupos experimentais. O grupo controle apresentou 82,5% de células com membrana plasmática íntegra, evidenciando boa preservação estrutural após o descongelamento. Em contrapartida, os grupos tratados com CBD apresentaram queda acentuada nesse parâmetro, com 12% no T1, 13,5% no T2 e 7,5% no T3 de espermatozoides íntegros.

Esse padrão indica que a adição do CBD ao diluidor, nas concentrações testadas, não foi eficaz na proteção da membrana plasmática durante o processo de criopreservação. Pelo contrário, os dados sugerem aumento da susceptibilidade à desestabilização da bicamada lipídica, possivelmente associado à interação do CBD com os fosfolipídios da membrana espermática.

A membrana plasmática dos espermatozoides caprinos é particularmente rica em ácidos graxos poli-insaturados, tornando-se altamente vulnerável a alterações físico-químicas durante o congelamento e descongelamento^{21, 22}. Embora o CBD possua reconhecida atividade antioxidante, sua natureza lipofílica permite interação direta com a bicamada lipídica, podendo alterar a organização da membrana celular quando utilizado em concentrações inadequadas, afetando sua permeabilidade e integridade estrutural^{15, 23}.

A integridade da membrana acrossomal seguiu tendência semelhante à observada para a membrana plasmática. O grupo controle apresentou 37% de acrossomos íntegros, enquanto os grupos tratados com CBD apresentaram redução progressiva: 24% no T1, 11% no T2 e 7% no T3.

A preservação do acrossoma é fundamental para o sucesso da fertilização, uma vez que sua integridade está diretamente relacionada à capacidade de reação acrossômica e penetração da zona pelúcida²⁴. A redução observada nos grupos tratados sugere que o CBD pode ter interferido negativamente na estabilidade das membranas internas do espermatozoide, potencializando danos estruturais durante o estresse térmico da criopreservação. Estudos demonstram que, embora antioxidantes possam reduzir a peroxidação lipídica, seu uso em concentrações inadequadas pode desencadear efeitos adversos em organelas sensíveis, como o acrossomo²⁵. Além disso, canabinoides podem modular canais iônicos e vias de sinalização celular, afetando diretamente a função espermática e a reação acrossômica²⁶.

De forma integrada, os resultados demonstram que a adição de óleo essencial de CBD ao diluidor Leite desnatado, nas concentrações de 0,5; 2,5 e 5 μ M, não promoveu melhora na qualidade espermática pós-descongelamento, comprometendo parâmetros fundamentais como motilidade, integridade da membrana plasmática e integridade acrossomal.

Esses achados contrastam com estudos que reportam efeitos benéficos do CBD em outros tipos celulares, reforçando a hipótese de que a resposta ao composto é altamente dependente do tipo celular, da concentração utilizada e do contexto fisiológico^{13, 14}. No caso dos espermatozoides, células terminalmente diferenciadas e metabolicamente limitadas, a margem de tolerância a alterações químicas é reduzida²⁷. Apesar dos resultados desfavoráveis nas concentrações testadas, este estudo fornece informações relevantes para a biotecnologia da reprodução animal, indicando que o uso do CBD em protocolos de criopreservação espermática deve ser realizado com cautela. Estudos futuros devem investigar concentrações mais baixas, diferentes veículos de solubilização e possíveis associações com outros antioxidantes, visando minimizar efeitos tóxicos e potencializar sua ação antioxidante.

4. Conclusão

A adição do canabidiol (CBD) ao diluidor Leite desnatado, nas concentrações de 0,5; 2,5 e 5 μ M, não melhorou a qualidade espermática pós-descongelamento do sêmen caprino, resultando em redução da motilidade, comprometimento dos parâmetros cinemáticos e diminuição da integridade das membranas

plasmática e acrossomal. Esses resultados indicam que, nas condições avaliadas, o CBD não exerceu efeito protetor durante a criopreservação, ressaltando que sua atividade antioxidante descrita em outros modelos celulares não pode ser diretamente extrapolada para espermatozoides. O estudo contribui de forma inédita para a biotecnologia da reprodução animal ao demonstrar a necessidade de avaliações criteriosas quanto à concentração, forma de aplicação e segurança do CBD em protocolos de criopreservação espermática.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Centro Universitário Brasileiro (UNIBRA) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIIC) e ao Setor de Reprodução Animal do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE pelo apoio técnico.

6. Referências

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT: Production - Cheese, goat milk [Internet]. 2025 [cited 2025 Jun 12]. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#search/Cheese%2C%20goat%20milk>.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção da pecuária municipal: Censo agropecuário 2017. Rio de Janeiro: IBGE; 2017.
3. Fonseca JF, et al. Nonsurgical embryo recovery as a feasible tool for supporting embryo biobanks of locally adapted Brazilian sheep and goats. *Biopreserv Biobank*. 2021;20:493-501. <https://doi.org/10.1089/BIO.2021.0066>.
4. Souza-Fabjan JMG, et al. In vitro production of small ruminant embryos: latest improvements and further research. *Reprod Fertil Dev*. 2021;33:31-54. <https://doi.org/10.1071/RD20206>.
5. Peña AI, et al. Motile sperm subpopulations in frozen-thawed dog semen: changes after incubation in capacitating conditions and relationship with sperm survival after osmotic stress. *Anim Reprod Sci*. 2012;133:214-223.
6. Luvoni GC. Gamete cryopreservation in the domestic cat. *Theriogenology*. 2006;66:101-111.
7. Vilela CG, et al. Cryopreservation of bison epididymal sperm: a strategy for improving post-thaw quality when collecting sperm in field conditions. *Theriogenology*. 2017;89:155-161.
8. Isaac AV, et al. Supplementing zinc oxide nanoparticles to cryopreservation medium minimizes the freeze-thaw-induced damage to spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;494(3):656-662. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.088>.
9. Heidari J, et al. Effect of nano zinc oxide on post-thaw variables and oxidative status of Moghani ram semen. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2019;25:71-76. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20294>.
10. Tvrdá E, Knazicka Z, Lukac N. Selected biochemical markers of oxidative stress in bovine seminal plasma and their correlations with spermatozoa motility. *J Vet Med A*. 2011;58(10):469-476.

<https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2011.00969.x>.

11. Silva RAJA, Batista AM, Arruda LCP, Souza HM, Nery IHAV, Gomes WA, Soares PC, Silva SV, Guerra MMP. Concentration of soybean lecithin affects short-term storage success of goat semen related with seminal plasma removal. *Anim Reprod*. 2019;16(4):895-901. <http://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0012>. PMID:32368269.
12. Barkhordari A, et al. Effect of zinc oxide nanoparticles on viability of human spermatozoa. *Iran J Reprod Med*. 2013;11(9):767-771.
13. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants*. 2020;9(1):21. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>.
14. Campos AC, et al. Cannabidiol, neuroprotection and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Res*. 2016;112:119-127. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.033>.
15. Borges RS, et al. Understanding the molecular aspects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol as antioxidants. *Molecules*. 2013;18(10):12663-12674. <https://doi.org/10.3390/molecules181012663>.
16. Kozela E, et al. Cannabinoids decrease the TH17 inflammatory autoimmune phenotype. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2011;6:529-539.
17. Swain JE, Smith GD. Thinking big by thinking small: application of microfluidic technology to improve ART. *Lab Chip*. 2013;13(7):1213-1224. <https://doi.org/10.1039/c3lc41020h>.
18. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA). Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA; 2013.
19. Borges MSA, et al. Paradoxical effect of quercetin antioxidant on goat sperm parameters after cryopreservation. *CryoLetters*. 2020;41(3):128-134.
20. Kowalczyk A. The role of the natural antioxidant mechanism in sperm cells. *Reprod Sci*. 2021.
21. Parks JE, Graham JK. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology*. 1992;38(2):209-222.
22. Aitken RJ, Curry BJ. Redox regulation of human sperm function: from the physiological control of sperm capacitation to the etiology of infertility. *Antioxid Redox Signal*. 2011.
23. Szabo B, Schlicker E. Effects of cannabinoids on neurotransmission. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;168:327-365.
24. Yanagimachi R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The physiology of reproduction*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1994.
25. Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Mol Cell Endocrinol*. 2006.

26. Rossato M, et al. Human sperm express cannabinoid receptor CB1, the activation of which inhibits motility, acrosome reaction, and mitochondrial function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005.
27. Aitken RJ. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Mol Reprod Dev.* 2017.