

ORIGINAL

Tratamiento antioxidante en hombres con infertilidad idiopática



Laura Mateu^{a,*}, Juan Manuel Corral^a, Anat Melnick^a, Marta Guimera^b,
Rafael Oliva^c, Jose Luis Ballescá^d y Antonio Alcaraz^a

^a Servicio de Urología, Hospital Clínic, Barcelona, España

^b Servicio de Ginecología, Obstetricia y Neonatología, Hospital Clínic, Barcelona, España

^c Unidad de Genética, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

^d Unidad de Andrología, Servicio de Ginecología, Obstetricia y Neonatología, Hospital Clínic, Barcelona, España

Recibido el 30 de mayo de 2016; aceptado el 10 de agosto de 2016

Disponible en Internet el 30 de noviembre de 2016

PALABRAS CLAVE

Infertilidad
masculina;
Antioxidantes;
Estrés oxidativo

Resumen

Objetivo: Los espermatozoides son vulnerables al estrés oxidativo, lo que ha llevado al uso de antioxidantes en hombres con infertilidad idiopática. Nuestro objetivo fue analizar los resultados del tratamiento antioxidante en hombres con infertilidad idiopática.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de 133 hombres con infertilidad idiopática que consultaron nuestro servicio entre 2010 y 2014. Evaluamos el número total de espermatozoides (NTE), formas progresivas (PR) y formas normales (FN) previo a tratamiento, tras 3 meses de tratamiento antioxidante y tras 3 meses más de tratamiento. Este consistió en ácido docosahe-xaenoico, coenzima Q10, zinc y selenio. Valoramos también la FSH e inhibina B pretratamiento.

Se utilizó el test de Wilcoxon para comparar los parámetros seminales antes y después del tratamiento y el coeficiente de correlación de Spearman para analizar la correlación entre variables pretratamiento y mejoría seminal.

Resultados: La edad fue de $36,8 \pm 5,1$ años y los valores de inhibina B y FSH, de $128,5 \pm 66$ ng/l y 7 ± 7 U/l, respectivamente. Había 35 (26,3%) oligozoospermicos, 99 (74,4%) astenospermicos y 23 (17,2%) teratospermicos. Encontramos mejoría significativa en el NTE, las PR y las FN tras 3 meses de antioxidantes respecto a los valores pretratamiento. Valores pretratamiento más bajos de NTE, PR y FN se correlacionaron con una mayor mejoría en el NTE (r_s : $-0,31$; $p=0,004$), PR (r_s : $-0,27$; $p=0,002$) y FN (r_s : $-0,48$; $p<0,001$), respectivamente. No hubo correlación entre los valores hormonales y los resultados del tratamiento.

Conclusiones: Los hombres con infertilidad idiopática pueden beneficiarse de 3 meses de tratamiento antioxidante. Aquellos con mayores alteraciones en el seminograma podrían obtener un mayor beneficio del tratamiento.

© 2016 Asociación Española de Andrología, Medicina Sexual y Reproductiva. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lmateuarrom@hotmail.com (L. Mateu).

KEYWORDS

Male infertility;
Antioxidants;
Oxidative stress

Antioxidant treatment in men with idiopathic infertility**Abstract**

Objective: Spermatozoa are susceptible to oxidative stress, which has led to the use of antioxidants in men with idiopathic infertility. Our objective was to analyze results of antioxidant treatment in men with idiopathic infertility.

Material and methods: Retrospective study of those 133 consecutive men with idiopathic infertility who attended our department between 2010-2014. We collected data about total sperm number (TSN), progressive forms (PF) and normal forms (NF) previous to treatment, after 3 months of antioxidant treatment and after 3 more months of treatment. We also assessed FSH and inhibin B levels before treatment. Antioxidant treatment was based on docosahexaenoic acid, coenzyme Q10, zinc and selenium.

Wilcoxon test for paired samples was performed to compare semen parameters before and after treatment and Spearman's rank correlation coefficient to analyze any correlation between pretreatment variables and seminal improvement.

Results: Mean age was 36.8 ± 5.1 years. Inhibin B and FSH values were 128.5 ± 66 ng/l and 7 ± 7 U/l, respectively. There were 35 (26.3%) oligozoospermic, 99 (74.4%) asthenospermic and 23 (17.2%) teratospermic patients. We found significant improvement in TSN, PF and NF after 3 months compared to before treatment. Lower pretreatment levels of TSN, PF percentage and NF percentage significantly correlated with a greater improvement of TSN ($r_s: -0.31$; $p=0.004$), PF percentage ($r_s: -0.27$; $p=0.002$) and NF percentage ($r_s: -0.48$; $p<0.001$), respectively. No correlation was found between pretreatment hormonal values and results of treatment.

Conclusions: Men with idiopathic infertility can benefit from 3 months of antioxidants. Those with greater deficiencies in sperm analysis could benefit the most from treatment.

© 2016 Asociación Española de Andrología, Medicina Sexual y Reproductiva. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La infertilidad, definida como la imposibilidad para conseguir una gestación en un año de relaciones sexuales no protegidas, afecta aproximadamente al 15% de las parejas en edad reproductiva. Hasta en el 50% de los casos se encuentra un factor masculino asociado¹. Estos hombres pueden presentar anomalías en los parámetros seminales que afectan a la movilidad, la morfología o la concentración de espermatozoides. En el 30-45% de ellos no se consigue identificar la causa de estas alteraciones, considerándose afectos de infertilidad idiopática¹. Una gran variedad de tratamientos empíricos se han probado en este grupo de pacientes. Sin embargo, existe poca evidencia científica que avale cualquiera de ellos¹.

Los espermatozoides son ricos en ácidos grasos poliinsaturados y son vulnerables al daño oxidativo². El estrés oxidativo está inducido por las especies reactivas de oxígeno (ROS). Bajo condiciones normales, el balance entre la producción de ROS y la actividad antioxidante está mantenido³. Se ha demostrado que pequeñas cantidades de ROS son necesarias para la capacitación espermática, la hiperactivación y la fusión espermatozoide-ovocito⁴. Sin embargo, niveles excesivos de ROS secundarios a un incremento en su producción o a una baja eliminación pueden afectar negativamente a la calidad espermática. Estos han sido relacionados con un aumento del daño en el ADN espermático, con la peroxidación de los lípidos de la membrana celular espermática, con

el descenso de la movilidad y de la eficacia de la fusión con el ovocito⁵, así como con defectos morfológicos y un mayor índice de deformidad espermática⁶. En el espermatozoide o en el líquido seminal se encuentran diversos mecanismos enzimáticos y no enzimáticos, como las enzimas superóxido dismutasa, catalasa o glutatión peroxidasa, las vitaminas E y C o el glutatión para contrarrestar el daño celular causado por una excesiva producción de ROS⁵. Se han detectado niveles altos de ROS en el 40-88% de los hombres infértiles⁷. Además, los hombres con infertilidad idiopática presentan niveles seminales más elevados de ROS y menores propiedades antioxidantes respecto a controles sanos⁸.

Así pues, parece que la fisiopatología de una calidad espermática subóptima secundaria al estrés oxidativo está siendo dilucidada⁵. La generación de ROS y los mecanismos de daño espermático están cada vez más claros, ofreciendo nuevas posibilidades de tratamiento empírico⁵. Teniendo esto en cuenta, se han publicado múltiples estudios atendiendo al potencial beneficio del tratamiento antioxidante sobre la calidad espermática^{3-5,9,10}. Sin embargo, la mayoría de estos estudios son no prospectivos, con un número limitado de pacientes, no controlados o realizados sobre hombres fértiles, por lo que la evidencia científica respecto al uso de este tratamiento es aún pobre^{3,4,10}. Así pues, por el momento no pueden realizarse recomendaciones sólidas que apoyen su uso¹¹. Nuestro objetivo fue evaluar los resultados del tratamiento antioxidante utilizado en nuestro centro en hombres con infertilidad idiopática.

Material y métodos

Realizamos un estudio retrospectivo de los 133 hombres con infertilidad idiopática que consultaron de forma consecutiva a nuestro Servicio de Andrología entre julio de 2010 y febrero de 2014. El diagnóstico de infertilidad idiopática se realizó en esas parejas con incapacidad de conseguir una gestación tras un año de relaciones sexuales regulares no protegidas, de acuerdo con la definición de la OMS¹². Consideramos la duración de la infertilidad como el tiempo durante el cual la pareja había intentado sin éxito el embarazo.

En todos los pacientes se realizó una historia médica completa, una exploración física y un análisis de semen. En caso de un seminograma alterado, se realizó un segundo análisis para confirmar los resultados. Todas las muestras se evaluaron por el personal habitual con el mismo equipamiento en el laboratorio de Andrología de nuestro centro. El estudio seminal se interpretó de acuerdo a las recomendaciones de la OMS, considerándose oligozoospermia cuando el número total de espermatozoides (NTE) se encontraba por debajo de 15 millones/ml; astenozoospermia cuando había menos de 32% de espermatozoides progresivos (formas progresivas [PR]) y teratozoospermia cuando había menos de 4% de formas normales (FN)¹³. Además se evaluó el estado hormonal del paciente (niveles de FSH e inhibina B) antes de cualquier tratamiento. El NTE, los porcentajes de PR y FN y los valores de FSH e inhibina B se consideraron variables continuas.

Todos los pacientes con potenciales causas de infertilidad como varicocele, historia de criptorquidia, infección, torsión o tumor testicular fueron excluidos del estudio. Los azoospermicos (ningún espermatozoide en el sedimento de la muestra centrifugada)¹³ también fueron excluidos para tratamiento antioxidante y por tanto no fueron incluidos en el estudio. Tras el diagnóstico de infertilidad idiopática, se indicó tratamiento empírico con antioxidantes. Este tratamiento consistió en cápsulas de ácido docohexaenoico 1.000 mg, coenzima Q10 200 mg y los oligoelementos selenio 105 µg y zinc 22,5 mg, dándose según las recomendaciones del fabricante que son 2 cápsulas al día, preferiblemente por la mañana, con un vaso de agua, zumo o leche.

Teniendo en cuenta la cinética de la espermatogénesis¹⁴, el primer control seminal se realizó preferiblemente tras 3 meses de tratamiento (tratamiento corto). Posteriormente se indicó un segundo curso de un mínimo de 3 meses más de tratamiento (tratamiento largo), realizándose al final un nuevo control seminal. El análisis del semen se realizó de acuerdo con los mismos criterios de la OMS.

Se utilizó el programa estadístico IBM® SPSS® Statistics v.22.0 para el análisis de los datos. Para comparar los parámetros seminales tras el tratamiento corto con antioxidantes respecto a los previos al tratamiento (en caso de tener más de un seminograma pretratamiento disponible, se comparó con el último de ellos) y para comparar los resultados tras un tratamiento largo con antioxidantes respecto a aquellos tras un tratamiento corto, se utilizó el test de Wilcoxon para muestras emparejadas, tras comprobar la no normalidad de las variables mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. El coeficiente de correlación de Spearman se utilizó para analizar una eventual correlación entre las variables pretratamiento y una mayor mejoría seminal.

Resultados

Se incluyeron 133 hombres, con edad media de $36,8 \pm 5,1$ años y duración de la infertilidad de $3,6 \pm 2,3$ años. Antes del tratamiento, los valores medios de NTE, porcentaje de PR y de FN fueron $57,3 \pm 78,4$; $22,2 \pm 17,1$ y $8,5 \pm 7$, respectivamente. Había 35 (26,3%) pacientes oligospermicos, 99 (74,4%) astenospermicos y 23 (17,2%) teratospermicos, de modo que 10 (13,3%) pacientes presentaban oligo, asteno y teratozoospermia al mismo tiempo. El valor medio de inhibina B y FSH fue $128,5 \pm 66$ ng/l y 7 ± 7 U/l, respectivamente.

Los controles seminales se realizaron a los $3,5 \pm 1,6$ y $8,5 \pm 3,8$ meses tras el tratamiento. Ningún paciente presentó efectos adversos con el tratamiento. Los resultados de los análisis seminales y sus comparaciones se muestran en la [tabla 1](#).

Respecto al NTE y el porcentaje de PR, se observó una mejoría seminal significativa tras el tratamiento corto con antioxidantes. Estos parámetros no variaron significativamente tras el tratamiento largo con antioxidantes con respecto al tratamiento corto.

Respecto al porcentaje de FN, se evidenció una mejoría significativa en el primer control seminal comparado con los valores pretratamiento. Además, el porcentaje de FN fue significativamente mayor tras el tratamiento largo respecto al tratamiento corto.

Valores más bajos de NTE pretratamiento se correlacionaron significativamente con un mayor aumento de NTE tras 3 meses de tratamiento ($r_s: -0,31$, $p=0,004$). De forma similar, valores pretratamiento más bajos de PR se correlacionaron con mayor mejoría en el porcentaje de PR ($r_s: -0,27$, $p=0,002$) y valores pretratamiento de FN más bajos con un mayor aumento de sus valores postratamiento ($r_s: -0,48$, $p<0,001$). No se observó ninguna correlación entre los valores de inhibina B o FSH y la mejoría en el NTE, porcentaje de PR o porcentaje de FN. Tampoco se identificó correlación entre la edad o la duración de la infertilidad y la mejoría en los parámetros seminales tras tratamiento.

De los 133 pacientes, en 93 se dispone de seguimiento, que fue de 5,7 meses en promedio. Se registraron 26 gestaciones (27,9%), de las cuales 20 (76,9%) llegaron a término y las otras 6 cursaban sin incidencias a la hora de realizar el análisis.

Discusión

Por su alta prevalencia, la infertilidad representa hoy en día un problema clínico relevante. Actualmente, el papel del estrés oxidativo en la etiología de la infertilidad idiopática está cada vez más aceptado⁸. En nuestro estudio analizamos de forma retrospectiva el efecto del tratamiento antioxidante sobre los parámetros seminales en hombres con infertilidad idiopática. Nuestros resultados sugieren que el número de espermatozoides, su movilidad y su morfología pueden mejorar tras 3 meses de este tratamiento. Además, cuanto mayor es el defecto seminal, mayor parece la mejoría tras el tratamiento.

En ausencia de un tratamiento definido para los hombres con infertilidad idiopática¹, el uso de antioxidantes ya ha sido probado por otros grupos. Basándose en que

Tabla 1 Resultados del análisis seminal antes y después del tratamiento corto y largo con antioxidantes

	Pretratamiento	Tras tratamiento corto (p)	Tras tratamiento largo (p)
NTE (10 ⁶ /eyaculado)	57,3 ± 78,4	74,7 ± 85,4 (0,012)	82,9 ± 93,8 (0,178)
PR (%)	22,2 ± 17,1	25,4 ± 18,5 (0,048)	31,2 ± 19,6 (0,489)
FN (%)	8,5 ± 7	10,9 ± 7,8 (< 0,001)	24,1 ± 17,1 (0,006)

FN: formas normales; NTE: número total de espermatozoides; PR: formas progresivas.

Test de Wilcoxon comparando los resultados del seminograma entre pretratamiento y tratamiento corto, y entre tratamiento corto y tratamiento largo.

los hombres infértiles presentan concentraciones más bajas de ácidos grasos omega 3 como el ácido docohexaenoico (DHA) en el plasma seminal, cuyas concentraciones se correlacionan con la actividad de la catalasa y superóxido dismutasa¹⁵, Safarinejad¹⁶ realizó un estudio aleatorizado mostrando que suplementos de ácidos omega 3 conllevaban una mejoría significativa del número total de espermatozoides y de su concentración en comparación con placebo. Sin embargo, otros grupos no han logrado demostrar ningún efecto del DHA sobre los parámetros seminales. Conquer et al.¹⁷, en un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, concluyeron que no había incorporación de DHA en los fosfolípidos espermáticos, lo que explicaría la ausencia de cambios en la motilidad espermática observados. Según nuestros resultados, el tratamiento con antioxidantes basados en DHA puede tener un efecto positivo tanto en el número de espermatozoides como en su movilidad y morfología. La coenzima Q10 participa en la respiración celular y conduce a la producción de energía, por lo que podría contribuir a un aumento en la movilidad espermática y su capacidad antioxidante¹¹. Nuestros resultados apoyan el hecho de que un tratamiento que incluya coenzima Q10 puede mejorar los parámetros seminales. De acuerdo con nuestros resultados, Safarinejad¹⁸, tras un estudio prospectivo, también concluyó que el tratamiento con coenzima Q10 mejora significativamente las características espermáticas, particularmente la movilidad. Sin embargo, otros grupos, como Nadjarzadeh et al.¹⁹, en un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, observaron un aumento en la capacidad antioxidante pero ninguna mejoría significativa en los parámetros seminales tras este tratamiento.

Se ha descrito también que el tratamiento con selenio, solo o en combinación con otros antioxidantes, mejora la concentración espermática, su motilidad y su morfología^{3,9}. El tratamiento con zinc también ha sido probado con efectos positivos sobre los parámetros seminales^{3,4,10}. De acuerdo con estos resultados, nuestro estudio también sugiere que la suplementación oral con estos minerales puede beneficiar a los hombres con infertilidad idiopática.

Con relación a la duración del tratamiento antioxidante, observamos que la mejoría seminal se consigue tras 3 meses de tratamiento, sin observar una mejoría adicional tras un tratamiento más largo. Hoy en día, la duración adecuada del tratamiento con antioxidantes no está aún establecida¹. Estudios previos con antioxidantes han mantenido este tratamiento durante un tiempo variable^{3,4}, llegando en ocasiones hasta los 12 meses¹⁸, sin que hasta la fecha se hayan realizado comparaciones. Teniendo en cuenta la cinética de la espermatogénesis¹⁴, consideramos que se necesitaría un

mínimo de 3 meses para objetivar algún cambio en los parámetros seminales. Sin embargo, aún se debía dilucidar si un tratamiento más prolongado podría conllevar un mayor beneficio, por lo que comparamos los resultados tras un tratamiento de larga duración respecto a los obtenidos tras un tratamiento corto. Aunque observamos una tendencia a la mejoría en el segundo control seminal, las diferencias fueron solo significativas para la morfología espermática. Es aún necesario clarificar si la mejoría seminal se mantendría a largo plazo tras solo un tratamiento corto de 3 meses de antioxidantes. Por otra parte, también es necesario evaluar si mantener el tratamiento durante más tiempo, por ejemplo 12 meses, resultaría en una mejoría seminal aún mayor, lo que indicaría que cuanto más tiempo de tratamiento se realiza, mayores beneficios se obtienen.

Un resultado interesante de nuestro estudio es que un mayor beneficio del tratamiento se observa en pacientes con mayores alteraciones en el seminograma pretratamiento. Aydos et al.²⁰ han mostrado recientemente que el daño en el ADN causado por el estrés oxidativo se correlaciona con el recuento, la motilidad y la morfología espermática. Ante estos resultados, parece razonable pensar que hombres con defectos seminales más importantes tienen una mayor cantidad de ROS y son potencialmente mejores respondedores al tratamiento antioxidante. En la misma línea, aunque no se hayan determinado los niveles de fragmentación del ADN ni de ROS seminal en los pacientes de este estudio, cabría esperar que los pacientes con estos niveles más altos presentaran una respuesta superior al tratamiento antioxidante²¹. Sin embargo, no solo los hombres con una alteración detectable en el seminograma básico pueden presentar infertilidad, sino que muchos hombres que consultan por este problema tienen parámetros seminales dentro de la normalidad. Pasqualotto et al.⁷ mostraron que hombres infértiles normozoospermicos pueden tener niveles altos de ROS como una potencial causa de su infertilidad. Así pues, aunque nuestros resultados sugieren que hombres con peores parámetros seminales son los que más podrían beneficiarse del tratamiento, es aún necesario identificar más variables pretratamiento para seleccionar a los mejores candidatos para el tratamiento antioxidante.

Se ha demostrado que la inhibina B es un importante factor relacionado con la función testicular. Niveles bajos de inhibina B, y sobre todo asociados a niveles más altos de FSH, se han relacionado con una mayor presencia de oligozoospermia, astenozoospermia y teratozoospermia²²; así mismo, se ha demostrado que la inhibina B sérica es un factor predictor de éxito de la extracción espermática testicular²³.

De este modo, aunque no se trataba del objetivo del presente estudio, observamos que niveles más bajos de

inhibina B se relacionaban significativamente con NTE más bajos previo a ningún tratamiento. Siguiendo esta línea, nos planteamos que valores más bajos de inhibina B se correlacionarían con una mayor mejoría del NTE. Sin embargo, se observó una relación débil y no significativa entre estos parámetros, posiblemente debido al limitado número de pacientes incluidos en el estudio.

Con este estudio contribuimos con nuestra experiencia en un tema de actualidad, muy frecuente y sobre el que aún existen controversias, como es el tratamiento de la infertilidad idiopática masculina. Según nuestros resultados, un curso corto de tratamiento empírico con la combinación de antioxidantes ácido docosahexaenoico, coenzima Q10, zinc y selenio podría estar justificado en hombres con infertilidad idiopática. Además, hemos evaluado diversas variables pretratamiento que pueden ayudar a predecir una mayor respuesta al tratamiento, concretamente en aquellos con seminogramas de peor calidad antes del tratamiento. Una limitación de este estudio es su naturaleza retrospectiva y unicéntrica, así como carecer de un grupo control. En segundo lugar, no se ha evaluado un único agente antioxidante, por lo que no se puede dilucidar cuál de los componentes usados en el estudio puede aportar un mayor beneficio. Además, no puede descartarse que a la mejoría seminal hayan contribuido otros factores incluidos en las recomendaciones generales para los pacientes con infertilidad idiopática, como evitar tóxicos como el tabaco, cannabis o alcohol, seguir una dieta sana o realizar ejercicio. Finalmente, el número de gestaciones observadas durante el estudio no ha sido comparado con un grupo control.

Como conclusión, nuestro estudio sugiere que los hombres con infertilidad idiopática pueden beneficiarse de 3 meses de tratamiento antioxidante, en términos de mejoría del recuento, movilidad y morfología espermática. Los pacientes con mayores alteraciones en el seminograma pretratamiento podrían ser los que obtuvieran un mayor beneficio de este tratamiento.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

No hay conflicto de intereses a declarar por parte de ninguno de los autores.

Bibliografía

1. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. European Association of Urology Working Group on Male Infertility. European Association of Urology guidelines on male infertility: The 2012 update. *Eur Urol.* 2012;62:324–32.
2. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: From research bench to clinical practice. *J Androl.* 2002;23:737–52.
3. Ross C, Morris A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarasamy A, et al. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online.* 2010;20:711–23.
4. Lombardo F, Sansone A, Romanelli F, Paoli D, Gandini L, Lenzi A. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: An overview. *Asian J Androl.* 2011;13:690–7.
5. Kefer JC, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *Int J Urol.* 2009;16:449–57.
6. Aziz N, Saleh RA, Sharma RK, Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas AJ Jr, et al. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. *Fertil Steril.* 2004;81:349.
7. Pasqualotto FF, Sharma RK, Kobayashi H, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Oxidative stress in normospermic men undergoing infertility evaluation. *J Androl.* 2001;22:316–22.
8. Agarwal A, Said TM. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: A clinical approach. *BJU Int.* 2005;95:503–7.
9. Imamovic Kumalic S, Pinter B. Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Biomed Res Int.* 2014;2014:426951.
10. Agarwal A, Sekhon LH. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: Is it justified? *Indian J Urol.* 2011;27:74–85.
11. Garg H, Kumar R. Empirical drug therapy for idiopathic male infertility: What is the new evidence? *Urology.* 2015;86:1065–75.
12. World Health Organisation. WHO manual for the standardised investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2000.
13. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. Ginebra: WHO; 2010.
14. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev.* 1972;52:198–236.
15. Safarinejad MR, Hosseini SY, Dadkhah F, Asgari MA. Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and anti-oxidant status of seminal plasma: A comparison between fertile and infertile men. *Clin Nutr.* 2009;9:100–5.
16. Safarinejad MR. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: A double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Andrologia.* 2011;43:38–47.
17. Conquer JA, Martin JB, Tummon I, Watson L, Tekpetey F. Effect of DHA supplementation on DHA status and sperm motility in asthenozoospermic males. *Lipids.* 2000;35:149–54.
18. Safarinejad MR. The effect of coenzyme Q10 supplementation on partner pregnancy rate in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: An open-label prospective study. *Int Urol Nephrol.* 2012;44:689–700.
19. Nadjarzadeh A, Shidfar F, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, et al. Effect of coenzyme Q10 supplementation on antioxidant enzymes activity and oxidative stress of seminal plasma: A double-blind randomised clinical trial. *Andrologia.* 2014;46:177–83.
20. Aydos OS, Yükselten Y, Kaplan F, Sunguroğlu A, Aydos K. Analysis of the correlation between sperm DNA integrity and conventional semen parameters in infertile men. *Turk J Urol.* 2015;41:191–7.
21. Martínez-Soto JC, de Dios-Hourcade J, Gutiérrez-Adán A, Landeras JL, Gadea J. Effect of genistein supplementation of

- thawing medium on characteristics of frozen human spermatozoa. *Asian J Androl.* 2010;12:431–41.
22. Barbotin AL, Ballot C, Sigala J, Ramdane N, Duhamel A, Marcelli F, et al. The serum inhibin B concentration and reference ranges in normozoospermia. *Eur J Endocrinol.* 2015;172:669–76.
23. Ballescà JL, Balasch J, Calafell JM, Alvarez R, Fàbregues F, de Osaba MJ, et al. Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 2000;15:1734–8.