

АНТИОКСИДАНТНАЯ ТЕРАПИЯ – КЛЮЧ К ЛЕЧЕНИЮ ИДИОПАТИЧЕСКОГО МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Идиопатическое бесплодие (ИБ) составляет до 30% мужского бесплодия. Антиоксиданты эмпирически использовались при лечении ИБ на основе их способности улучшать репродуктивную функцию, угнетенную оксидативным стрессом (ОС), часто встречающимся у этих пациентов. Основная цель обзорной статьи состояла в том, чтобы сообщить об обоснованности имеющихся данных, подтверждающих использование антиоксидантов. Было показано, что антиоксиданты, такие как глутатион, витамины Е и С, карнитины, коэнзим-Q10, N-ацетилцистеин, селен, цинк, фолиевая кислота и ликопин, уменьшают повреждение спермы, вызванное ОС. Хотя строгие научные данные в форме двойных слепых плацебо-контролируемых клинических исследований ограничены, последние систематические обзоры и метаанализы сообщили о положительном эффекте антиоксидантов на параметры спермы и показатели рождаемости. Для подтверждения эффективности и безопасности антиоксидантной терапии в лечении ИБ требуются дополнительные рандомизированные контролируемые исследования с целью определения эффективной дозировки, сроков лечения, необходимых для улучшения параметров спермы, наступления беременности и рождения здорового ребенка.

Ключевые слова: идиопатическое мужское бесплодие, оксидативный стресс, антиоксидантная терапия.

R.I. OVCHINNIKOV, PhD in medicine, A.Yu. POPOVA, PhD in medicine, S.I. GAMIDOV, MD, Prof., A.V. KVASOV
Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of Russia, Moscow

ANTIOXIDANT THERAPY IS THE KEY TO THE TREATMENT OF IDIOPATHIC MALE INFERTILITY

Idiopathic infertility (II) accounts for up to 30% of male infertility. Antioxidants were empirically used in the treatment of II based on their ability to improve reproductive function suppressed by oxidative stress (OS), which was often found in these patients. The review article was aimed to report the validity of available data confirming the use of antioxidants. Antioxidants such as glutathione, vitamins E and C, carnitines, coenzyme Q10, N-acetylcysteine, selenium, zinc, folic acid and lycopene have been shown to reduce sperm damage caused by OS. Although rigorous scientific evidence in the form of double-blind, placebo-controlled clinical trial is limited, recent systematic reviews and meta-analyses showed a positive effect of antioxidants on sperm parameters and fertility rates. There is, however, a need for further investigation with randomised controlled studies to confirm the efficacy and safety of antioxidant therapy in the medical treatment of idiopathic male infertility as well as the need to determine the effective dose of each compound to improve semen parameters, fertilisation rates and healthy pregnancy outcomes.

Keywords: idiopathic male infertility, oxidative stress, antioxidant therapy.

ВВЕДЕНИЕ

Бесплодный брак – отсутствие беременности у партнерши в течение 1 года регулярной половой жизни без предохранения – встречается примерно у 15% пар во всем мире [1]. К мужскому фактору бесплодия относятся состояния, при которых обнаруживается изменение параметров спермы или половой/эякуляторной функции. Его доля среди пар составляет около 40–50% [2]. Почти в 30% случаев определенная этиология данных изменений не идентифицирована, и, следовательно, она обозначена как мужское идиопатическое бесплодие (ИБ) [3]. Однако даже при этом может быть применена терапия, направленная на лечение мужского фактора бесплодия.

В последние несколько лет прогресс в развитии диагностических методов оценки функции спермы несколько приблизил нас к пониманию механизмов, приводящих к аномальному сперматогенезу при ИБ. Оксидативный стресс (ОС) широко исследовался, и обнаружилось, что он играет негативную роль в функциони-

ровании сперматозоидов. Активные формы кислорода (АФК) представляют собой кислородсодержащие химически активные молекулы, которые при нормальных физиологических условиях полезны для функции спермы. К ним относятся способствование реакции капацитации, регуляция созревания сперматозоидов и развитие клеточных сигнальных путей. Тем не менее при более высоких уровнях АФК было показано, что они индуцируют перекисное окисление липидов (ПОЛ), повреждение ДНК сперматозоидов и апоптоз. Чтобы преодолеть эти нежелательные последствия, АФК естественным образом стабилизируются или дезактивируются антиоксидантной системой организма. Однако, когда возникают избыточные количества АФК или когда антиоксидантная система выходит из строя, развивается состояние ОС. Сперматозоиды особенно уязвимы для ОС, поскольку они не обладают необходимыми цитоплазматическими антиоксидантными системами восстановления, и их мембрана богата полиненасыщенными жирными кислотами, что делает их восприимчивыми к ОС-индуцированному ПОЛ [4, 5].

20–40% бесплодных мужчин имеют значительно более высокий уровень АФК в сперме по сравнению с фертильными мужчинами [6]. Кроме того, были обнаружены значительные отрицательные корреляции между параметрами ОС и качеством спермы, скоростью оплодотворения, эмбриональным развитием и частотой наступления беременности. Aktan et al. сравнили 28 мужчин с ИБ и 14 фертильных мужчин и обнаружили значительно более высокие уровни маркеров ОС в группе ИБ [7].

20–40% бесплодных мужчин имеют значительно более высокий уровень АФК в сперме по сравнению с фертильными мужчинами

Таким образом, уменьшение ОС можно считать потенциальным ключом к терапии ИБ у таких больных, хотя не утихают споры о ее фактической клинической пользе. Это связано главным образом с тем, что исследования, изучающие антиоксидантные формы, выявили значительные различия в дозировке или комбинациях активных веществ, а также в результатах лечения. В этом обзоре мы

стремимся исследовать обоснование использования различных антиоксидантных веществ и доказательства их клинической эффективности.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ИБ

Антиоксиданты – это соединения, которые организм получает при приеме определенных видов продуктов или нутрицевтиков. Они часто назначаются для лечения мужского бесплодия, главным образом потому, что они легко доступны как безрецептурные натуральные добавки. Антиоксиданты существуют в двух формах: ферментативные антиоксиданты (они включают глутатион-пероксидазу/редуктазу, супероксиддисмутазу и каталазу) и неферментные антиоксиданты, которые главным образом получают из пищевых добавок [8]. Среди всех доступных антиоксидантов наиболее часто назначаемые соединения включают витамины Е и С, карнитин, N-ацетилцистеин, селен и цинк (табл.).

Эмпирическое применение антиоксидантов для пациентов с ИБ нацелено на улучшение параметров спермы и тем самым повышение вероятности зачатия. Хотя достоверность такой концепции была отмечена в клинической

Таблица. Характеристика основных антиоксидантов, влияние на показатели спермы и обоснование доказательности [27]

Соединение	Суточная доза, мг	Механизм защитного действия	Описанные эффекты	Уровень доказательности
Глутатион	600	Входит в состав ГТП Удаляет продукты ПОЛ и H ₂ O ₂	Улучшение всех параметров спермы	C
Витамин Е	20–400	Нейтрализует свободные гидроксильные радикалы и супероксидные анионы	↑ концентрации ↑ подвижности сперматозоидов ↓ ОС ↓ фрагментации ДНК сперматозоидов	B
Витамин С	500–1000	Нейтрализует гидроксид, супероксид и пероксид водорода	↑ подвижности сперматозоидов ↓ ОС ↓ фрагментации ДНК сперматозоидов	C
Карнитины	500–1000	Источник энергии, обеспечивающий подвижность и созревание сперматозоидов	Улучшение всех параметров спермы ↑ частоты наступления беременности	B
Коэнзим Q-10	100–600	Стабилизирует и защищает клеточную мембрану от ОС	Значительное ↑↑ концентрации ↑↑ подвижности сперматозоидов	A
N-ацетилцистеин	30–60	Предшественник глутатиона Удаляет свободные радикалы	↑ подвижности сперматозоидов ↓ ОС	B
Селен	0,05–0,2	Входит в состав специфической группы протеинов (селеноэнзимов) Помогает сохранить структурную целостность сперматозоидов	Улучшение всех параметров спермы ↓ ОС	C
Цинк	0,05–0,25	Антиапоптотические и антиоксидантные свойства Протективный эффект для структуры сперматозоидов	Улучшение всех параметров спермы ↑ частоты наступления беременности	C
Фолиевая кислота	0,25–0,5	Роль в синтезе ДНК и правильной работе клеточных функций, удаляет свободные радикалы	Значительное ↑↑ концентрации сперматозоидов ↑ частоты наступления беременности	C
Ликопин	2–8	Инактивирует атомарный (синглетный) кислород	Улучшение всех параметров спермы ↑ частоты наступления беременности	C

практике, научно приемлемые доказательства, демонстрирующие преимущества антиоксидантной терапии в больших контролируемых исследованиях человека, недостаточны. Использование антиоксидантов у пациентов с ИБ в значительной степени основывается на эффектах защиты, которую каждый антиоксидант обеспечивает против ОС. Следующие антиоксиданты были отобраны на основании имеющихся доказательств их использования, особенно у бесплодных мужчин с ИБ.

Глутатион является неотъемлемой частью фермента глутатион-пероксидазы (ГТП). Естественный антиоксидант ГТП обеспечивает основную эндогенную антиоксидантную защиту от ПОЛ в яичках и их придатке. Благодаря инактивации пероксидов липидов и перекиси водорода (H_2O_2) этот фермент обеспечивает защиту для липидных компонентов, таким образом, сохраняя жизнеспособность и подвижность сперматозоидов. Исследования подтвердили значительное уменьшение уровня ГТП у бесплодных мужчин по сравнению с фертильным контролем [9].

Витамин Е (α -токоферол) представляет собой органическое жирорастворимое соединение, расположенное главным образом в клеточных мембранах. Это мощный антиоксидант, способный инактивировать свободные гидроксильные радикалы и супероксидные анионы, тем самым уменьшая ПОЛ, инициируемое АФК на уровне плазматических мембран. Поэтому этот антиоксидант защищает компоненты мембран сперматозоидов от повреждения ОС. Установлена прямая связь между уровнями витамина Е в семенной плазме и процентом подвижных сперматозоидов в сперме. Кроме того, более низкие уровни витамина Е наблюдались в сперме бесплодных мужчин [10].

Активные формы кислорода представляют собой кислородсодержащие химически активные молекулы, которые при нормальных физиологических условиях полезны для функции спермы. К ним относятся способствование реакции капацитации, регуляция созревания сперматозоидов и развитие клеточных сигнальных путей

Витамин С является водорастворимым соединением, концентрация которого в семенной плазме в 10 раз выше, чем в сыворотке крови. Он способен нейтрализовать радикалы гидроксила, супероксида и перекиси водорода, тем самым обеспечивая защиту от эндогенного окислительного повреждения. Более низкие уровни витамина С и более высокие уровни АФК наблюдались в семенной плазме мужчин с астенозооспермией. Кроме того, витамин С имел значительную дозозависимую положительную корреляцию с подвижностью и морфологией сперматозоидов [11].

Карнитин является еще одним водорастворимым антиоксидантом, участвующим в метаболизме сперматозоидов, и считается источником энергии, активно участву-

ющим в подвижности сперматозоидов. Исследования *in vitro* подтвердили этот эффект, когда сперматозоиды, культивируемые в средах, содержащих карнитин, демонстрировали более высокую подвижность и жизнеспособность по сравнению с контролем [12].

Использование антиоксидантов у пациентов с ИБ в значительной степени основывается на эффектах защиты, которую каждый антиоксидант обеспечивает против ОС

Было обнаружено, что у мужчин с патозооспермией значительно более низкие уровни карнитина в их сперме. Основными формами, используемыми при лечении мужского бесплодия, являются L-карнитин и ацетил-L-карнитин [13].

Коэнзим Q10 (CoQ-10) является важным антиоксидантом почти для всех тканей организма и встречается в высоких концентрациях в митохондриях сперматозоидов, играющих неотъемлемую роль в производстве энергии. Его участие в клеточном дыхании и производстве энергии оправдывает его использование для улучшения антиоксидантной активности и подвижности сперматозоидов. Было обнаружено, что уровни CoQ-10 в семенной плазме имеют линейную корреляцию с количеством сперматозоидов и их подвижностью [14].

В нескольких исследованиях было оценено влияние CoQ-10 на параметры спермы у пациентов с ИБ. Safarinejad назначил 212 мужчинам с ИБ перорально 300 мг Co-Q10 или плацебо в течение 26 нед. Он продемонстрировал статистически значимое увеличение концентрации и подвижности сперматозоидов при терапии CoQ-10 ($p = 0,01$), а также сообщил о положительном влиянии CoQ-10 у мужчин на спонтанную беременность у супруги [15].

N-ацетилцистеин представляет собой аминокислоту, которая проявляет антиоксидантные свойства после превращения в организме в цистеин, который является предшественником глутатиона. Он также способен напрямую снижать ОС за счет удаления свободных радикалов [16].

В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании рандомизировано 468 мужчин ИБ на четыре группы: 200 мкг селена, 600 мг N-ацетилцистеина, 200 мкг селена + 600 мг N-ацетилцистеина и плацебо. Авторы сообщили о значительном улучшении всех параметров спермы в группах селена и N-ацетилцистеина с синергизмом в комбинированной группе. Кроме того, была установлена зависимость от дозы положительная корреляция между суммой концентраций селена/N-ацетилцистеина и средней концентрацией сперматозоидов ($r = 0,67$, $p = 0,01$), подвижностью ($r = 0,64$, $p = 0,01$) и процентом нормальной морфологии ($r = 0,66$, $p = 0,01$) [17].

Хотя вышеупомянутые исследования обосновывают использование N-ацетилцистеина у мужчин с ИБ для улучшения качества спермы, не было исследовано изменение сроков наступления беременности.

Селен является важным микроэлементом, участвующим в сперматогенезе. Он обеспечивает защиту ДНК сперматозоидов от повреждения ОС. Механизм до конца не ясен. Считается, что селен увеличивает функцию биологического глутатиона, поскольку он является основным компонентом определенной группы белков, называемых селеноферментами. Существует более 25 селенопротеинов, таких как гидропероксид фосфолипида ГТП и сперматозоидный селенопротеин супероксид ГТП, которые помогают поддерживать структурную целостность сперматозоидов. Морфологические аномалии и нарушение подвижности сперматозоидов являются одними из наиболее распространенных видов патоспермии, связанных с дефицитом селена [18].

Safarinejad et al. сообщили о статистически значимом улучшении всех параметров спермы у мужчин, получавших 200 мкг селена отдельно или в комбинации с N-ацетилцистеином в течение 26 нед. [17].

В недавнем обзоре литературы было установлено, что селен оказывает благоприятное влияние на жизнеспособность сперматозоидов, обеспечивая защиту от АФК [19].

Цинк является важным микроэлементом, участвующим в метаболизме ДНК и РНК. Он обладает антиапоптотическими и антиоксидантными свойствами с потенциальным положительным эффектом на сперматогенез. Было обнаружено, что концентрации цинка в семенной плазме значительно выше у фертильных по сравнению с субфертильными мужчинами [20].

Исследования показали положительный эффект добавления цинка у пациентов с ИБ: увеличение концентрации сперматозоидов, прогрессирующей подвижности, целостности сперматозоидов и частоты наступления беременности [21].

Были обнаружены значительные отрицательные корреляции между параметрами ОС и качеством спермы, скоростью оплодотворения, эмбриональным развитием и частотой наступления беременности. Aktan et al. сравнили 28 мужчин с ИБ и 14 фертильных мужчин и обнаружили значительно более высокие уровни маркеров ОС в группе ИБ

Фолиевая кислота представляет собой витамин В (В9), который играет жизненно важную роль в синтезе нуклеиновых кислот и метаболизме аминокислот. Она обладает сродством к свободным радикалам, что и послужило основанием к ее использованию в качестве потенциального антиоксиданта для лечения мужского бесплодия. Потребление фолиевой кислоты связано с более низким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов [20, 22].

Ликопин представляет собой синтезированный естественным образом каротиноид, присутствующий во фруктах и овощах. Он играет важную роль в системе антиоксидантной защиты человека, поскольку обладает

высокой способностью инактивировать атомарный (синглетный) кислород – высокоэнергетическую форму кислорода [23].

Ликопин обнаружен в высоких концентрациях в яичках и семенной плазме фертильных мужчин и в низких – у мужчин, страдающих бесплодием [24].

Пероральная терапия ликопином в течение 3 мес. приводила к статистически значимым улучшениям концентрации у 66% и подвижности сперматозоидов у 53% пациентов [25].

СИСТЕМНЫЕ ОБЗОРЫ

Хотя в большинстве исследований изучалось влияние антиоксидантов на параметры спермограммы, мало кто исследовал их влияние на беременность или коэффициент рождаемости. Имеющиеся системные обзоры, возможно, дают картину влияния антиоксидантной терапии на мужское бесплодие.

Пероральная терапия ликопином в течение 3 мес. приводила к статистически значимым улучшениям концентрации у 66% и подвижности сперматозоидов у 53% пациентов

Кохрановский обзор 48 рандомизированных контролируемых клинических исследований, в т. ч. 4 179 субфертильных мужчин, показал статистически значимое улучшение коэффициента рождаемости (отношение шансов [OR] 4,21, 95%-ный доверительный интервал [CI] 2,08–8,51, $p < 0,0001$) и сроков наступления беременности (OR 3,43, 95%-ный ДИ 1,92–6,11, $p < 0,0001$), несмотря на значительную разнородность влияния антиоксидантного эффекта на параметры спермограммы [26].

Хотя опубликованные исследования в целом демонстрируют благоприятный эффект антиоксидантов на фертильность мужчин, оптимальный тип и доза антиоксидантов, а также их точный механизм действия до сих пор неизвестны [27].

ДАЛЬНЕЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ ИБ

Исходя из имеющегося уровня доказательности и клинического опыта в этой области отделения андрологии и урологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, мы предполагаем полезность комбинации L-карнитина, глутатиона, витамина Е, CoQ-10, фолиевой кислоты вместе с микроэлементами, такими как цинк и селен, для лечения пациентов с ИБ. Изучение влияния антиоксидантной терапии мужского бесплодия с помощью комплекса биологически активных веществ, витаминов и микроэлементов является предметом дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антиоксиданты подвергаются активному исследованию как препараты для лечения мужского бесплодия. Тем не менее сбор высококачественных доказательств, например из двойных слепых плацебо-контролируемых испытаний, об эффективности этих соединений является медленным и трудным процессом. Ряд исследований подтвердили положительный эффект антиоксидантов в отношении нарушений сперматогенеза, вызванных ОС. Однако существуют также клинические исследования, показавшие ограниченное количество убедительных доказательств в поддержку их использования.

Залогом успеха является индивидуальный подход к лечению каждой пары с наличием мужского фактора бес-

плодия. Взаимодействие врачей различных специальностей на всех этапах ведения пары, страдающей бесплодием, – не только гинеколога, репродуктолога, генетика,

Ряд исследований подтвердили положительный эффект антиоксидантов в отношении нарушений сперматогенеза, вызванных ОС. Однако существуют также клинические исследования, показавшие ограниченное количество убедительных доказательств в поддержку их использования

эмбриолога, но и уролога-андролога – путь к успешному решению репродуктивных задач как конкретной семьи, так и нашего государства.



ЛИТЕРАТУРА

1. Esteves SC, Miyaoka R, Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. [corrected]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2011, 66: 691–700. Erratum in: *Clinics (Sao Paulo)*, 2012, 67: 203.
2. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol*, 2015, 13: 37.
3. Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained male infertility: diagnosis and management. *Int Braz J Urol*, 2012, 38: 576–94.
4. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *World J Mens Health*, 2014 Apr, 32(1): 1-17.
5. Archibong AE, Rideout ML, Harris KJ, Ramesh A. Oxidative stress in reproductive toxicology. *Current Opinion in Toxicology*, 2018 February, 7: 95–101.
6. Moazamian R, Polhemus A, Connaughton H et al. Oxidative stress and human spermatozoa: diagnostic and functional significance of aldehydes generated as a result of lipid peroxidation. *Mol. Hum. Reprod*, 2015, 21: 502-515.
7. Aktan G, Dogru-Abbasoglu S, Kucukgergin C, Kadioglu A, Ozdemirler-Erata G, Kocak-Toker N. Mystery of idiopathic male infertility: Is oxidative stress an actual risk? *Fertil Steril*, 2013, 99: 1211-5.
8. Agarwal A, Majzoub A. Role of antioxidants in male infertility. *BJU Knowledge*, 2016. DOI 10.18591/BJU.K.0510.
9. Dorostghoal M, Kazeminejad SR, Shahbazian N, Pourmehdi M, Jabbari A. Oxidative stress status and sperm DNA fragmentation in fertile and infertile men. *Andrologia*, 2017 Dec, 49(10). doi: 10.1111/and.12762. Epub 2017 Jan 26.
10. Akbarirad H, Gohari Ardabili A, Kazemini SM et al. An overview on some of important sources of natural antioxidants. *International Food Research Journal*, 2016, 23(Issue 3): 928-933.
11. Lewis SE, John Aitken R, Conner SJ, Iulius GD, Evenson DP, Henkel R, et al. The impact of sperm DNA damage in assisted conception and beyond: Recent advances in diagnosis and treatment. *Reprod Biomed Online*, 2013, 27: 325-37.
12. Banihani S, Agarwal A, Sharma R, Bayachou M. Cryoprotective effect of L-carnitine on motility, vitality and DNA oxidation of human spermatozoa. *Andrologia*, 2014, 46: 637-41.
13. Tournaye H, Krausz C, Oates RD. Concepts in diagnosis and therapy for male reproductive impairment. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2017 July, 59(Issue 7): 554-564.
14. Lafuente R, González-Comadrán M, Solà I, López G, Brassesco M, Carreras R, Checa MA. Coenzyme Q10 and male infertility: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*, 2013 Sep, 30(9): 1147-56. doi: 10.1007/s10815-013-0047-5.
15. 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.
16. Ko EY, Sabanegh ES Jr, Agarwal A. Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril*, 2014 Dec, 102(6): 1518-27.
17. Safarinejad MR, Safarinejad S. Efficacy of selenium and/or N-acetyl-cysteine for improving semen parameters in infertile men: A double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*, 2009, 181: 741-51.
18. Salas-Huetos A, Bulló M, Salas-Salvadó J. Dietary patterns, foods and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies. *Hum Reprod Update*, 2017 Jul 1, 23(4): 371-389.
19. Ahsan U, Kamran Z, Raza I, Ahmad S, Babar W, Riaz MH, et al. Role of selenium in male reproduction – A review. *Anim Reprod Sci*, 2014, 146: 55-62.
20. Nematollahi-Mahani SN, Azizollahi GH, Baneshi MR, Safari Z, Azizollahi S. Effect of folic acid and zinc sulphate on endocrine parameters and seminal antioxidant level after varicocelectomy. *Andrologia*, 2014 Apr, 46(3): 240-5.
21. Türk S, Mändar R, Mahlapuu R, Viitak A, Punab M, Kullisaar T. Male infertility: decreased levels of selenium, zinc and antioxidants. *J Trace Elem Med Biol*, 2014 Apr, 28(2): 179-85.
22. Raigani M, Yaghmaei B, Amirjannti N, Lakpour N, Akhondi MM, Zeraati H, Hajhosseinal M, Sadeghi MR. The micronutrient supplements, zinc sulphate and folic acid, did not ameliorate sperm functional parameters in oligoasthenoteratozoospermic men. *Andrologia*, 2014, 46(9): 956-62.
23. Kelkel M, Schumacher M, Dicato M, Diederich M. Antioxidant and anti-proliferative properties of lycopene. *Free Radic Res*, 2011, 45: 925-40.
24. Agarwal A, Sekhoni LH. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: Is it justified? *Indian J Urol*, 2011, 27: 74-85.
25. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C, Prashast P. Lycopene and male infertility. *Asian J Androl*, 2014 May-Jun, 16(5): 420-5.
26. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014, Issue 12. Art. No.: CD007411. DOI: 10.1002/14651858.CD007411.pub3.
27. Majzoub A, Agarwal A. Antioxidant therapy in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Indian J Urol*, 2017, 33(3): 207-214.