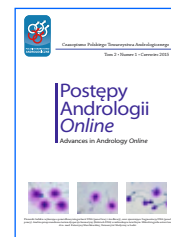




Czasopismo Polskiego Towarzystwa Andrologicznego

Postępy Andrologii Online

Advances in Andrology Online

<http://www.andrologia-pta.com.pl>

STRES OKSYDACYJNY A NIEPŁODNOŚĆ MĘSKA. CZEŚĆ II: ANTYOKSYDANTY W LECZENIU MĘSKIEJ NIEPŁODNOŚCI

OXIDATIVE STRESS AND MALE INFERTILITY. PART II: ANTIOXIDANTS IN TREATMENT OF MALE INFERTILITY

Renata Walczak-Jędrzejowska

Zakład Endokrynologii Płodności, Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Autor do korespondencji: Renata Walczak-Jędrzejowska (renata.walczak-jedrzejowska@umed.lodz.pl)

Renata Walczak-Jędrzejowska – dr n. med., absolwentka Uniwersytetu Łódzkiego, biolog, specjalność biologii molekularnej. Nauczyciel akademicki w Zakładzie Endokrynologii Płodności Katedry Andrologii i Endokrynologii Płodności Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Współwykonawca polskich i europejskich projektów badawczych. Pierwszy autor i współautor 93 publikacji naukowych. Skarbnik Polskiego Towarzystwa Andrologicznego, członek Międzynarodowego Towarzystwa Andrologicznego, Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego, Towarzystwa Histochemików i Cytochemików oraz Komisji Andrologii Komitetu Biologii Rozrodu PAN. Praca zawodowa i naukowa autorki związana jest z badaniami nad czynnością męskiego układu płciowego i jego zaburzeniami oraz diagnostyką andrologiczną.

Streszczenie

W ostatnich latach opublikowano wiele prac, w których wykazano, że reaktywne formy tlenu występują w zwiększonej ilości w nasieniu niepłodnych mężczyzn, zaburzając czynności plemników, głównie w wyniku utleniania lipidów błon komórkowych oraz uszkodzenia ojcowskiego DNA. W konsekwencji uważa się, że stres oksydacyjny jest jedną z głównych przyczyn męskiej niepłodności. Ponieważ w warunkach stresu oksydacyjnego naturalne systemy antyoksydacyjne nie są w stanie neutralizować i usuwać nadmiaru reaktywnych form tlenu, wydaje się uzasadnione twierdzenie, że złagodzenie stresu oksydacyjnego poprzez przyjmowanie egzogennych antyoksydantów może prowadzić do polepszenia czynności plemników i potencjalnie płodności mężczyzny. Mimo iż istnieje wiele badań, w których wykazano korzystny wpływ podawania antyoksydantów na parametry nasienia czy nawet wzrost odsetka ciąży u partnerek, to nie ma możliwości ustalenia na ich podstawie jednoznacznych wytycznych co do wprowadzenia terapii antyoksydantami do rutynowej praktyki leczenia męskiej niepłodności. Dlatego też, obecnie, leczenie antyoksydantami zaburzeń męskiej płodności pozostaje ciągle w sferze tzw. leczenia empirycznego.

słowa kluczowe: stres oksydacyjny, niepłodność męska, antyoksydanty

Abstract

In recent years many articles have showed, that reactive oxygen species are present in increased amounts in the semen of infertile men, causing sperm dysfunction, mainly due to peroxidation of cell membrane's lipids and paternal DNA. Thus, it is presently considered that oxidative stress is one of the main causes of male infertility. Since at oxidative stress, natural antioxidant systems are not able to neutralize and remove excess of reactive oxygen species, it seems logical that amelioration of oxidative stress by taking exogenous antioxidants may lead to improve sperm function and potentially male fertility. Although there are many studies that have demonstrated a beneficial effect of antioxidant administration to improve semen parameters or even increase in the pregnancy rates, it is still impossible to establish clear guidelines for the introduction of antioxidant therapy in routine treatment of male infertility. Thus, until now the treatment of male infertility with antioxidants stays an empirical one.

key words: oxidative stress, male infertility, antioxidants

Skróty / Abbreviations

4HNE – 4-hydroksynonenal (ang. *4-hydroxynonenal*), 8-OHdG – 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna (ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*), ATP – adenozy-5'-trifosforan (ang. *adenosine-5'-triphosphate*), CASA – analiza nasienia wspomaganą komputerowo (ang. *computer-assisted semen analysis*), DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); DHA – kwas dokozaheksaenowy (ang. *docosahexaenoic acid*), G6PDH – dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (ang. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*), GPX – peroksydaza glutationowa (ang. *glutathione peroxidase*), GRADE – grupa robocza GRADE (ang. *Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation Working Group*), ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*), iOAT – idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia (ang. *idiopathic oligoasthenoteratozoospermia*), IMSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika wyselekcjonowanego pod względem morfologicznym (ang. *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*), MDA – dialdehyd malonowy (ang. *malondialdehyde*), mtDNA – mitochondrialny DNA (ang. *mitochondrial DNA*), NADPH – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, forma zredukowana (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced*), NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*), PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. *polyunsaturated fatty acids*), RDA – zalecane dzienne spożycie (ang. *recommended dietary allowance*), RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*), -SH – grupa sulfhydrylowa (ang. *sulfhydryl group*)

Stres oksydacyjny spowodowany jest zachwianiem równowagi między wytwarzaniem tzw. reaktywnych form tlenu (RFT, ang. *reactive oxygen species*), powstających w komórkach podczas wielu procesów metabolicznych, a działaniem ochronnego systemu antyoksydacyjnego organizmu odpowiedzialnego za ich neutralizowanie i usuwanie (Walczak-Jędrzejowska i wsp., 2013). Ocenia się, że u co najmniej 25% niepłodnych mężczyzn w porównaniu z mężczyznami płodnymi występuje w nasieniu podwyższony poziom RFT (Agarwal i wsp., 2004; Aitken i wsp., 2010; Fraga i wsp., 1991; Iwasaki i Gagnon, 1992; Zini i wsp., 2009). Nadmiar RFT jest przyczyną występowania reakcji patologicznych prowadzących do uszkodzenia ważnych cząsteczek biologicznych (lipidów błon komórkowych, białek, DNA), powodując nieodwracalne zmiany w ich strukturze i prowadząc do zaburzenia czynności plemników, a w konsekwencji obniżenia ich potencjału zapładniającego (Cummins i wsp., 1994). Dodatkowo wykazano, że podwyższeniu poziomu RFT towarzyszy często obniżenie zdolności antyoksydacyjnych nasienia (Lewis i wsp., 1997; Sanocka i wsp., 1996; Smith i wsp., 1996). Dlatego też w ostatnich latach ukazuje się coraz więcej artykułów naukowych poświęconych badaniu wpływu suplementacji substancjami o udokumentowanym działaniu antyoksydacyjnym na poprawę męskiej płodności.

Stres oksydacyjny a parametry nasienia i czynność plemników

W warunkach stresu oksydacyjnego zaburzone zostaje prawidłowe wytwarzanie plemników oraz ich jakość w wyniku interakcji RFT z lipidami błony komórkowej, białkami oraz DNA. Istnieje wiele doniesień wykazujących, że wzrost poziomu RFT i/lub obniżenie poziomu antyoksydantów w nasieniu korelują z zaburzeniem ruchliwości plemników (Aitken i wsp., 1993a; Aitken i wsp., 1997; Benedetti i wsp., 2012; de Lamirande i Gagnon, 1992a; 1992b; Gil-Guzman i wsp., 2001; Ollero i wsp., 2001; Sikka, 1996), nieprawidłową morfologią (Benedetti i wsp., 2012; Gil-Guzman i wsp., 2001; Ollero i wsp., 2001) czy oligozoospermią (Aitken i wsp., 1989; Guz i wsp., 2013;

Mahanta i wsp., 2012; Pasqualotto i wsp., 2000). Z drugiej strony, ocenia się, że u 30–80% niepłodnych mężczyzn zaobserwować można uszkodzenia oksydacyjne plemników nawet wtedy, gdy parametry rutynowych badań nasienia takie jak koncentracja, ruchliwość czy morfologia plemników są w granicach normy (Tremellen, 2008). Dlatego też uważa się, że właśnie stres oksydacyjny może leżeć u podstaw wielu przypadków męskiej niepłodności o nieznanym podłożu – tzw. niepłodności idiopatycznej.

Błona komórkowa plemników zawiera duże ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA, ang. *polyunsaturated fatty acids*), głównie kwasu dokozaheksaenowego (DHA, ang. *docosahexaenoic acid*), które z jednej strony odpowiedzialne są za płynność błony, a z drugiej czynią ją podatną na uszkodzenia peroksydacyjne wywoływane przez RFT (Alvarez i Storey, 1995; Alvarez i wsp., 1987). Peroksydacja lipidów jest procesem łańcuchowym, zapewniającym ciągłą dostawę wolnych rodników inicjujących następne reakcje peroksydacyjne. Proces ten uważany jest za jeden z głównych mechanizmów uszkodzeń oksydacyjnych plemników, skutkujący obniżeniem płynności błon, zmianami ich struktury, wzrostem niespecyficznego przepuszczalności jonów oraz unieczynnieniem związanych z błoną receptorów i białek, co nieuchronnie prowadzi do zaburzeń czynności plemników i niepłodności (Agarwal i wsp., 2014; Aitken i wsp., 2014; Frączek i Kurpisz, 2013). Jednym z głównych efektów tego procesu jest utrata ruchliwości i przeżywalności plemników głównie na skutek utraty adenozy-5'-trifosforanu (ATP, ang. *adenosine-5'-triphosphate*) i spadku fosforylacji białek aksonemalnych (Aitken i wsp., 1993b; Rao i wsp., 1989; Rivlin i wsp., 2004).

Reakcja peroksydacji lipidów prowadzi także do wytworzenia cytotoksycznych aldehydów takich jak dialdehyd malonowy (MDA, ang. *malondialdehyde*) czy 4-hydroksynonenal (4HNE, ang. *4-hydroxynonenal*), które w dalszym etapie mogą uszkadzać cząsteczki białek czy też DNA, w tym ostatnim przypadku tworząc tzw. addukty objętościowe i przyczyniając się do niestabilności DNA (Grosicka-Maciąg, 2011; Przybyszewski i wsp., 2005). Aitken i wsp. (2012) w badaniach *in vitro* wykazali że, 4HNE i akroleina powodują utratę ruchliwości

ludzkich plemników. Z kolei pomiar stężenia MDA jest wykorzystywany jako biochemiczny marker uszkodzeń peroksydacyjnych lipidów i koreluje z obniżeniem koncentracji, morfologii, a przede wszystkim ruchliwości plemników i jakością DNA, a w konsekwencji ich zdolnością zapładniającą (Atig i wsp., 2012; Benedetti i wsp., 2012; Hsieh i wsp., 2006; Jędrzejczak i wsp., 2005).

Oddziaływanie RFT z białkami powoduje ich utlenianie, które może prowadzić do rozerwania łańcucha polipeptydowego, pojawienia się zmienionych reszt aminokwasowych, czy też tworzenia dimerów bądź agregatów białkowych. Zmiany te w konsekwencji powodują zmianę struktury białka oraz utratę jego aktywności biologicznej. Oksydacyjne modyfikacje w strukturze i topografii białek błonowych główki i witki plemnika mogą zaburzać capacytancję, reakcję akrosomalną i w efekcie fuzję plemnika z oocytą (Frączek i Kurpisz, 2013). W białkach najbardziej podatne na utlenianie są reszty cysteiny i metioniny zawierające grupy sulfhydrylowe (–SH, ang. *sulfhydryl group*) oraz tyrozyna i tryptofan. Głównymi mediatorami oksydacyjnego uszkodzenia białek są najczęściej rodnik hydroksylowy, nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy (Grosicka-Maciąg, 2011; Zabłocka i Janusz, 2008). Przykładowo, wykazano, że nadtlenek wodoru powoduje hamowanie aktywności enzymu dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PDH, ang. *glucose-6-phosphate dehydrogenase*) w plemnikach, w konsekwencji zmniejszając ilości dostępnego, zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH, ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced*), który jest niezbędny w reakcji redukcji utlenionego glutationu do jego formy zredukowanej (D'Autreaux i Toledano, 2007; Meister, 1988). Wynika z tego, że zahamowanie aktywności G6PDH obniża dostępność zredukowanej formy glutationu, która jest niezbędna dla prawidłowego działania enzymu peroksydazy glutationowej (GPX, ang. *glutathione peroxidase*), powodując tym samym obniżenia zdolności antyoksydacyjnych plemnika (Griveau i wsp., 1995).

Stres oksydacyjny jest uważany za główny czynnik powodujący uszkodzenia DNA plemników (Aitken i De Iulii, 2010). Za oksydacyjne uszkodzenia DNA odpowiedzialny jest przede wszystkim rodnik hydroksylowy oraz tlen singletowy. Nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy nie powodują uszkodzenia kwasów nukleinowych. Utlenianie DNA prowadzi do modyfikacji zasad azotowych, reszt cukrowych lub powstania pęknięć kwasów nukleinowych (jedno- i dwuniciowych) oraz wiązań poprzecznych DNA-białko. Jedną z zasad, która łatwo ulega utlenianiu, jest guanina. Produktem reakcji rodnika hydroksylowego z cząsteczką nukleozydu deoksyguanozyny jest 8-hydrokso-2'-deoksyguanozyna (8-OHdG, ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*), która jest najczęściej spotykanym mutagennym uszkodzeniem cząsteczki DNA (Grosicka-Maciąg, 2011), dzięki czemu może być markerem oksydacyjnych uszkodzeń DNA. Wykazano, że poziom jej koreluje dodatnio z ilością RFT

oraz pęknięciami jądrowego DNA plemnika u nieplodnych mężczyzn (Aitken i wsp., 2010; De Iulii i wsp., 2009) oraz pacjentów z żyłakami powrózków nasiennych lub wnetrostwem (Abd-Elmoaty i wsp., 2010; Agarwal i wsp., 2008). Obniżenie poziomu pojedynczych antyoksydantów oraz całkowitej zdolności antyoksydacyjnej nasienia oraz wzrost poziomu RFT w nasieniu korelują z uszkodzeniami DNA w plemnikach nieplodnych mężczyzn (Atig i wsp., 2013; Khosravi i wsp., 2012; Zini i wsp., 2009). Uszkodzenia te współwystępują często z obniżeniem liczby plemników i wzrostem odsetka nieprawidłowych plemników (Mehdi i wsp., 2009; Virro i wsp., 2004) oraz zaburzeniem ich ruchliwości (Appasamy i wsp., 2007; Erenpreiss i wsp., 2008; Piasecka i wsp., 2007). Jako że wysoki poziom fragmentacji jądrowego DNA wykazano także u nieplodnych mężczyzn z normozoospermia, wydaje się, że uszkodzenia DNA mogą być główną przyczyną niepłodności idiopatycznej (Erenpreiss i wsp., 2008; Oleszczuk i wsp., 2013; Piasecka i wsp., 2006).

W plemniku z prawidłowo dojrzałą i skondensowaną chromatyną tylko 10–15% jądrowego DNA związane jest z histonami i wykazuje budowę nukleosomową. Pozostała część genomowego DNA plemnika (85–90%), podczas procesu protaminacji obejmującego wymianę histonów somatycznych na histony jądrowe, tych z kolei na białka przejściowe i finalnie na specyficzne dla plemnika białka protaminowe (protamina 1 i protamina 2), upakowywana jest w formie toroidu, który zabezpiecza DNA przed szkodliwym działaniem czynników takich jak stres oksydacyjny. Defekty genów kodujących białka protaminy czy też zaburzenia ich transkrypcji lub translacji białek protaminowych mogą prowadzić do nieprawidłowej ilości i stosunku transkryptów obu protamin, następnie do deprotaminacji i nieprawidłowej kondensacji chromatyny, a tym samym do obniżenia integralności genomu plemników (Kazienko i wsp., 2012; Piasecka i wsp., 2013). Plemnikiowe DNA staje się wtedy bardziej podatne na uszkodzenia oksydacyjne prowadzące m.in. do jego fragmentacji (Aoki i wsp., 2006; De Iulii i wsp., 2009; Torregrosa i wsp., 2006). Fragmentacja DNA plemnika koreluje z jakością plemnika, zaburzeniami procesu zapłodnienia, częstością wystąpienia ciąży oraz urodzeń (Evenson i Wixon, 2006; Evenson i Wixon, 2008; Zhang i wsp., 2008; Zini, 2011; Zini i wsp., 2011). Ponadto, integralność plemnikowego DNA jest także silnie związana z przypadkami nawracających, spontanicznych poronień (Gil-Villa i wsp., 2010; Kennedy i wsp., 2011; Kumar i wsp., 2012; Zini, 2011). Najczęściej, w warunkach naturalnej selekcji (naturalne zapłodnienie, inseminacja czy też „klasyczne” zapłodnienie *in vitro*) plemniki z oksydacyjnym uszkodzeniem DNA, z powodu dodatkowo występujących uszkodzeń peroksydacyjnych błony komórkowej, nie są zdolne do zapłodnienia komórki jajowej. Jednakże, kiedy warunki naturalnej selekcji zostają pominięte, tak jak to jest w przypadku procedury docytoplazmatycznej iniekcji plemnika do komórki jajowej (ICSI, ang. *intracytoplasmic sperm*

injection), pomimo uszkodzeń oksydacyjnych plemnika może dojść do zapłodnienia (*Twigg i wsp.*, 1998b). Oczywiście, w takim przypadku istnieje jeszcze możliwość naprawy uszkodzonego DNA plemnika przez mechanizmy naprawcze komórki jajowej, co uzależnione może być w dużej mierze od jakości samego oocytu (*Meseguer i wsp.*, 2011). Uważa się jednak, że mechanizmy naprawcze oocytu są w stanie naprawić np. DNA zmodyfikowane adduktami, a możliwości naprawy pęknięć nici DNA, zarówno jedno-, jak i dwuniciowych, jest w nich ograniczona, co znacząco może wpływać na proces zapłodnienia (*Gonzalez-Marin i wsp.*, 2012; *Menezo i wsp.*, 2010). Zastosowanie w przypadku procedury ICSI dodatkowych metod selekcji plemnika pod względem morfologicznym (IMSI, ang. *intracytoplasmic morphologically selected sperm injection*) oraz ruchliwości, ocenianej z wykorzystaniem analizy nasienia wspomaganej komputerowo (CASA, ang. *computer assisted sperm analysis*), może ograniczyć zapłodnienie komórki jajowej plemnikiem ze zwiększoną fragmentacją DNA (*Maettner i wsp.*, 2014; *Sivanarayana i wsp.*, 2012). Jednakże zawsze w przypadku możliwości zapłodnienia komórki jajowej plemnikiem z podwyższoną ilością pęknięć DNA trzeba brać pod uwagę zwiększone ryzyko wystąpienia poronień, niepowodzenia w zagnieżdżeniu blastocysty, czy też kłopotów z donoszeniem ciąży oraz niekorzystnego wpływu na zdrowie potomstwa (*Benchaib i wsp.*, 2007; *Bungum i wsp.*, 2007; *Davies i wsp.*, 2012; *Hansen i Bower*, 2014; *Kennedy i wsp.*, 2011; *Robinson i wsp.*, 2012).

Oprócz jądrowego DNA, uszkodzeniom oksydacyjnym może podlegać także DNA mitochondrialne (mtDNA, ang. *mitochondrial DNA*). W plemnikach można zaobserwować liczne zaburzenia budowy morfologicznej oraz czynności mitochondriów, takie jak: zmniejszenie aktywności lub ekspresji enzymów mitochondrialnych, w tym enzymów łańcuch oddechowego, zaburzenia oksydoredukcyjne, obniżony potencjał błony, mutacje, delecje i polimorfizmy mtDNA, czy zaburzenia ubikwitynacji mitochondriów (*Piasecka*, 2004). Wykazano na przykład, że komórki, w których obecne jest zmutowane mtDNA, wykazują niższą czynność mitochondrialnego łańcucha oddechowego i zwiększoną produkcję rodnika hydroksylowego, nadtlenu wodoru oraz anionorodnika ponadtlenkowego (*Bogenhagen*, 1999; *Liu i wsp.*, 2004; *Taylor i Turnbull*, 2005). Ponadto, wykazano związek między RFT, funkcją mitochondriów a apoptozą, gdzie wysoki poziom RFT powodował uszkodzenie wewnętrznej i zewnętrznej błony mitochondrialnej i uwolnienie cytochromu C (*Wang i wsp.*, 2003). Z kolei cytochrom C aktywuje kaspazy i indukuje apoptozę komórek, która wzrasta u nieplodnych mężczyzn z podwyższonym poziomem RFT w nasieniu. Badania doświadczalne na myszach wykazały, że zaburzenie czynności łańcucha oddechowego wynikające z nieprawidłowości w mtDNA prowadzi do zatrzymania podziałów mejotycznych komórek płciowych, a w konsekwencji oligozoospermii, astenozoospermii i teratozoospermii (*Nakada i wsp.*, 2006). Podobnie u ludzi

zaobserwowano, że wzrost ilości mutacji mtDNA może prowadzić do zaburzeń budowy plemników i ich defektów ultrastrukturalnych (*Shamsi i wsp.*, 2008).

Suplementacja antyoksydantami – czy jest uzasadniona?

Analizując badania nad wpływem stresu oksydacyjnego na płodność męską, wydaje się oczywiste, że istnieją naukowe przesłanki przemawiające za możliwością zastosowania suplementacji antyoksydantami do leczenia męskiej niepłodności. W nasieniu nieplodnych mężczyzn oznaczano wyższy poziom RFT oraz niższy poziom antyoksydantów w porównaniu z mężczyznami płodnymi (*Agarwal i wsp.*, 2004; *Aitken i wsp.*, 2010; *Fraga i wsp.*, 1991; *Iwasaki i Gagnon*, 1992; *Zini i wsp.*, 2009). Również w badaniach *in vitro* wykazywano, że wystawienie plemników na działanie RFT lub stymulacja wytwarzania RFT przez same plemniki powodowały spadek ich ruchliwości, zaburzenie integralności błony komórkowej oraz obniżenie jakości DNA, w konsekwencji prowadząc do obniżenia potencjału zapładniającego plemników (*Aitken i wsp.*, 1996; *Kemal Duru i wsp.*, 2000; *Miesel i wsp.*, 1993; *Potts i wsp.*, 2000; *Twigg i wsp.*, 1998a). Z kolei po dodaniu do medium antyoksydantów następowało zahamowanie działania RFT, a tym samym zahamowanie powstawania uszkodzeń oksydacyjnych w plemnikach (*Hong i wsp.*, 1994; *Kobayashi i wsp.*, 1991; *Parinaud i wsp.*, 1997; *Verma i Kanwar*, 1999). Nie dziwi więc fakt, że w ciągu ostatnich dwóch dekad pojawiły się liczne badania kliniczne analizujące wpływ suplementacji antyoksydantami na płodność męskiej (*Agarwal i Sekhon*, 2010; *Gharagozloo i Aitken*, 2011; *Imamovic Kumalic i Pinter*, 2014; *Ko i Sabanegh*, 2012; *Lombardo i wsp.*, 2011; *Ross i wsp.*, 2010; *Zini i Al-Hathal*, 2011). Przy tak dużej liczbie badań oczekuje się, że możliwe będzie ostateczne wykazanie zasadności stosowania antyoksydantów w niepłodności męskiej. Jednakże nie jest to zadanie proste, ponieważ w badaniach tych występuje duże zróżnicowanie dotyczące typu, dawki oraz czasu podawania antyoksydantów. Ponadto w wielu z nich kryteria włączenia opierają się głównie na analizie parametrów podstawowego badania nasienia, a nie parametrów jednoznacznie wskazujących na występowanie w nasieniu stresu oksydacyjnego. Kolejnymi słabymi punktami większości z tych badań jest brak odpowiedniej grupy kontrolnej, mała liczebność grupy badanej, czy też różnorodność analizowanych efektów końcowych. Zwykle były to parametry podstawowego badania nasienia, takie jak liczba, ruchliwość czy morfologia, rzadziej testy oceniające np. uszkodzenia oksydacyjne poszczególnych makromolekuł plemnika, czy też częstość występowania ciąży i urodzeń. W ostatnich latach pojawiły się prace przeglądowe zawierające podsumowanie dotychczasowych badań klinicznych dotyczących wpływu zażywania różnego rodzaju antyoksydantów

na poprawę męskiej płodności (Agarwal i Sekhon, 2010; Gharagozloo i Aitken, 2011; Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; Ko i Sabanegh, 2012; Lombardo i wsp., 2011; Ross i wsp., 2010; Zini i Al-Hathal, 2011) (tabela 1a–f).

W jednym z najwcześniejszych z wymienionych artykułów przeglądowych Ross i wsp. (2010) wybrali do swojej analizy wyniki 17 artykułów opisujących tylko randomizowane badania kliniczne, kontrolowane *placebo* lub z grupą kontrolną nieotrzymującą leczenia, opublikowane przed 31 maja 2009 r., w których grupę docelową stanowili nieplodni mężczyźni ($n = 1665$). Niestety, z powodu niejednorodności analizowanych badań nie było możliwe dokonanie metaanalizy wyników. Kryteriami włączenia w analizowanych badaniach były nieplodność (4/17 artykułów), astenozoospermia (8/17 artykułów), oligozoospermia (1/17 artykułów), oligoastenozoospermia (2/17 artykułów) oraz stopień fragmentacji DNA plemników (2/17 artykułów). Badanymi antyoksydantami były: witamina C i E, cynk, selen, kwas foliowy, karnityna, N-acetyl-cysteina, astaksantyna oraz Menevit (komercyjnie dostępny zestaw antyoksydantów, w skład którego wchodzi witamina E i C, cynk, selen, kwas foliowy, likopen i czosnek), przy czym kuracja antyoksydantami trwała od 8 do 26 tygodni (mediana: 13 tygodni). We wszystkich badaniach analizowane efekty końcowe dotyczyły parametrów badania nasienia (16/17) i/lub częstości wystąpienia ciąży (10/17) oraz dodatkowo w siedmiu z nich jako efekt leczenia badano także stres oksydacyjny plemników. W podsumowaniu autorzy zaznaczają, że przeprowadzona analiza randomizowanych badań wskazuje na fakt, że leczenie nieplodnych mężczyzn antyoksydantami głównie zmniejsza stres oksydacyjny w nasieniu (7/7 badań) i może powodować poprawę ruchliwości plemników (10/16 badań), lecz w mniejszym stopniu oddziałuje na poprawę liczby plemników (5/15 badań) oraz morfologii (2/12 badań). Dodatkowo, w 6 z 10 analizowanych badań, w których jednym z badanych efektów końcowych była częstość wystąpienia ciąży u partnerek, zanotowano poprawę tego parametry po podawaniu antyoksydantów. Jednakże autorzy podkreślają, że na podstawie przedstawionej analizy nie ma możliwości wyciągnięcia jednoznacznych wniosków co do tego, który antyoksydant lub grupa antyoksydantów powinna być rekomendowana do stosowania w leczeniu męskiej nieplodności, jaka powinna być dawka każdego z antyoksydantów, a także czas trwania kuracji. Niestety, wyniki analizy także nie wskazują jednoznacznie, jaka grupa nieplodnych mężczyzn najbardziej skorzystałaby na takiej terapii, chociaż autorzy spekulują, że prawdopodobnie mogliby to być pacjenci z astenozoospermią i obniżoną zdolnością antyoksydacyjną nasienia, a czas trwania kuracji powinien być dłuższy niż 9 tygodni.

Agarwala i Sekhona (2010) dokonali przeglądu badań klinicznych, w których grupę badaną stanowili mężczyźni z idiopatyczną oligoastenoteratozoospermią (iOAT, ang. *idiopathic oligoastenoteratozoospermia*). Autorzy postanowili zastosować do analizy wyników tych badań

systematyczny i jasno sprecyzowany punktowy system oceny jakości danych i klasyfikacji siły zaleceń opracowany przez Grupę Roboczą „GRADE” (ang. *Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation Working Group*). Zastosowanie tego systemu pozwoliło wykazać, że najwyższa jakość dotychczasowych dowodów naukowych przemawia za stosowaniem karnityny w leczeniu iOAT, oraz, choć w mniejszym stopniu, także za stosowaniem cynku czy witaminy E i C.

W 2011 r. opublikowano kolejne artykuły, w których dokonano przeglądu aktualnej literatury naukowej dotyczącej wykorzystania suplementacji antyoksydantami w męskiej nieplodności. Podobnie jak Ross i wsp. (2010), także Zini i Al-Hathal (2011) analizowali randomizowane badania kliniczne dotyczące suplementacji różnymi antyoksydantami mężczyzn z zaburzoną płodnością. Najczęściej badanymi antyoksydantami w artykułach analizowanych przez tych autorów były witamina C, E, selen, cynk, glutation, L-karnityna oraz N-acetyl-cysteina. Na 24 analizowane badania w 18 wykazano dodatni wpływ podawanych antyoksydantów na poprawę parametrów nasienia, głównie ruchliwości (14/18), koncentracji (12/18), a w najmniejszym stopniu morfologii (5/18). Z kolei w 6 z 24 analizowanych badań nie zanotowano żadnych różnic między grupą kontrolną a grupą badaną. W przypadku szczególnie analizowanych antyoksydantów podawanie samej witaminy C (1 badanie) powodowało poprawę parametrów nasienia. Poprawę parametrów nasienia, głównie ruchliwości, uzyskano także 1) w 3 z 6 badań, w których podawano witaminę E samą lub w połączeniu z witaminą C lub selenem, 2) w 5 na 5 badań, w których oceniano wpływ cynku podawanego oddzielnie lub w połączeniu z kwasem foliowym, 3) w 2 z 3, w których podawano sam selen lub w połączeniu z N-acetyl-cysteiną, 4) w 3 z 4, gdzie podawano samą L-karnitynę lub w połączeniu z L-acetyl-karnityną. Autorzy przeanalizowali także 8 artykułów, w których kryterium włączenia pacjentów do badań był podwyższony poziom fragmentacji DNA plemnika lub obecny w nasieniu stres oksydacyjny. Parametry te wykazują mniejszą biologiczną zmienność od parametrów badania nasienia i wydają się bardziej od nich wiarygodne, jeśli chodzi o dobór grupy badanej, w której suplementacja antyoksydantami mogłaby przynieść korzyść. Badane antyoksydanty to Menevit (2/8), a także witamina C i E podawane razem (2/8) lub dodatkowo w połączeniu z β -karotenem, cynkiem, selenem czy np. glutationem. We wszystkich badaniach podawanie antyoksydantów powodowało polepszenie jakości DNA plemników i w niektórych przypadkach także wzrost odsetka ciąży po zastosowaniu metod wspomaganego rozrodu (3/8).

Lombardo i wsp. (2011) wybrali do swojej analizy 78 artykułów, w których badano wpływ antyoksydantów na męską płodność w badaniach klinicznych *in vivo* (40 badań) oraz w modelach *in vitro* (38 badań). Jeśli chodzi o badania kliniczne, jednym z głównych zarzutów

Tabela 1a. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1a. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used analysed antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Balercia i wsp., 2005	astenozoospermia asthenozoospermia	L-karnityna 3 g i acetyl-L-karnityna 500 mg/dziennie, lub L-karnityna 2 g i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 3 g and acetyl-L-carnitine 500 mg/day, or L-carnitine 2 g and acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa ruchu postępowego plemników i całkowitej zdolności antyoksydacyjnej nasienia improvement of sperm progressive motility and semen total antioxidant capacity	1, 2, 3, 4, 6
Lenzi i wsp., 2004	astenozoospermia asthenozoospermia	L-karnityna 2 g/dziennie i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 2 g/day and acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	1, 3, 4, 7
Omu i wsp., 1998	astenozoospermia asthenozoospermia	cynk 500 mg/dziennie, 13 tygodni zinc 500 mg/day; 13 weeks	poprawa ruchu i liczby plemników, integralności błony komórkowej improvement of sperm count and motility, and integrity of cell membrane	1, 2, 3
Omu i wsp., 2008	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina C 10 mg, witamina E 20 mg, cynk 400 mg/dziennie, lub witamina E 20 mg, cynk 400 mg/dziennie lub cynk 400 mg/dziennie; 13 tygodni vitamin C 10 mg, vitamin E 20 mg, zinc 400 mg/day or vitamin E 20 mg, zinc 400 mg/day; 13 weeks	poprawa ruchu i zdolności zapładniającej plemników (<i>in vivo</i>), spadek fragmentacji DNA improvement of sperm motility and fertilizing capability (<i>in vivo</i>), decrease in DNA fragmentation	1, 2, 3, 6, 7
Rolfi i wsp., 1999	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina C 1000 mg, witamina E 800 mg/dziennie; 8 tygodni vitamin C 1000 mg, vitamin E 800 mg/day; 8 weeks	brak efektu no effect	1, 2, 3, 4, 7
Scott i wsp., 1998	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina A 1 mg, witamina C 10 mg, witamina E 15 mg, selen 100 µg/dziennie; 13 tygodni vitamin A 1 mg, vitamin C 10 mg, vitamin E 15 mg, selenium 100 µg/day; 13 weeks	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	1, 2, 3, 4
Suleiman i wsp., 1996	astenozoospermia asthenozoospermia	witamina E 300 mg/dziennie; 26 tygodni vitamin E 300 mg/day; 26 weeks	poprawa ruchu plemników, spadek peroksydacji lipidów błon komórkowych improvement of sperm motility, decrease of cell membrane lipid peroxidation	1, 2, 3, 4, 6, 7
Wang i wsp., 2010	astenozoospermia asthenozoospermia	grupa A: L-karnityna 2 g, witamina E/dziennie; 3 miesiące grupa B: witamina E/dziennie; 3 miesiące group A: L-carnitine 2 g, vitamin E/day; 3 months group B: vitamin E/day; 3 months	grupa A poprawa ruchu plemników, odsetek spontanicznych ciąży u partnerek 31,1% vs. 3,8% w grupie B group A: sperm motility improvement, rate of spontaneous pregnancies 31.1% vs. 3.8% in group B	5
Sigman i wsp., 2006	astenozoospermia asthenozoospermia	L-karnityna 1 g i L-acetyl-karnityna 500 mg/dziennie; 16 tygodni L-carnitine 1 g and L-acetyl-carnitine/day; 16 weeks	brak efektu no effect	1, 2, 3, 4
Balercia i wsp., 2004	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	koenzym Q10 200 mg/2 × dziennie; 6 miesięcy coenzyme Q10 200 mg/twice a day; 6 months	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	5
Costa i wsp., 1994	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	L-karnityna 3 g/dziennie; 4 miesiące L-carnitine 3 g/day; 4 months	poprawa koncentracji, ruchu, morfologii plemników improvement of sperm concentration, motility and morphology	3, 7
Moselmi i Tavanbakhsh, 2011	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	selen 200 µg, witamina E 400 j./dziennie; 100 dni selenium 200 µg, vitamin E 400 u/day; 100 days	poprawa ruchu i/lub morfologii plemników (52,6% pacjentów); odsetek uzyskanych ciąży u partnerek 10,8% improvement of sperm motility and/or morphology (52.6% of patients); rate of pregnancies – 10.8%	5
Vitali i wsp., 1995	idiopatyczna astenozoospermia idiopathic asthenozoospermia	L-karnityna 3 g/dziennie; 3 miesiące L-carnitine 3 g/day; 3 months	poprawa liczby i ruchu plemników improvement of sperm count and motility	7
Kumar i wsp., 2011	idiopatyczna astenoteratozoospermia idiopathic asthenoteratozoospermia	addyzoa (preparat mineralno-ziółowy) 2 kapsułki/2 × dziennie; 3 miesiące addyzoa (mineral-herbal preparation) 2 caps./twice a day; 3 months	poprawa ruchu całkowitego i postępowego plemników improvement of total and progressive motility	5

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Busetto i wsp., 2012</i>	idiopatyczna astenoteratozoospermia idiopathic asthenoteratozoospermia	Proxeed Sigma Tau (preparat złożony)/raz dziennie; 4 miesiące Proxeed Sigma Tau (complex preparation)/once per day; 4 months	poprawa ruchu postępowego; odsetek spontanicznych ciąży u partnerek 16% improvement of sperm progressive motility, rate of spontaneous pregnancies in 16% of female partners	5
<i>Abad i wsp., 2013</i>	astenoteratozoospermia asthenoteratozoospermia	L-karnityna 1500 mg, witamina C 60 mg, koenzym Q10 20 mg, witamina E 10 mg, cynk 10 mg, witamina B9 200 µg, selen 50 µg, witamina B1 21 µg/dziennie; 3 miesiące L-carnitine 1500 mg, vitamin C 60 mg, coenzyme Q10 20 mg, vitamin E 10 mg, zinc 10 mg, vitamin B9 200 µg, selenium 50 µg, vitamin B1 21 µg/day; 3 months	poprawa koncentracji, ruchu, żywotności i morfologii, poprawa integralności DNA, spadek liczby plemników ze zdegradowanym DNA improvement of sperm motility, viability and morphology; improvement of sperm DNA integrity, decrease in sperm number with degraded DNA	5
<i>Piomboni i wsp., 2008</i>	astenoteratozoospermia z leukocytospermią asthenoteratozoospermia with leukocytospermia	β-glukan 20 mg, papaja 50 mg, laktoferyna 97 mg, witamina C 30 mg, witamina E 5 mg/2 × dziennie; 3 miesiące β-glucan 20 mg, papaya 50 mg, lactoferrin 97 mg, vitamin C 30 mg, vitamin E 5 mg/twice a day; 3 months	poprawa ruchu i morfologii plemników, spadek liczby leukocytów improvement of sperm motility and morphology, decrease in leucocytes count	2, 5

(*) nr pracy poglądowej / review no: (1) *Ross i wsp., 2010*; (2) *Zini i Al-Hathal, 2011*; (3) *Lombardo i wsp., 2011*; (4) *Ko i Sabanegh, 2012*; (5) *Imamovic Kumalic i Pinter, 2014*; (6) *Gharagozloo i Aitken, 2011*; (7) *Agarwal i Sekhon, 2011*.

Tabela 1b. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1b. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>De Aloysio i wsp., 1982</i>	astenozoospermia lub oligoastenozoospermia asthenozoospermia or oligoasthenozoospermia	arginina 9 lub 18 g/dziennie i gonadotropiny lub antybiotyki lub NLPZ; 80 dni arginine 9 or 18 g/day and gonadotrophins or antibiotics or NLPZ; 80 days	poprawa liczby i morfologii plemników, odsetek ciąży u partnerek 50% improvement of sperm count and morphology; rate of pregnancies – 50%	4
<i>Akmal i wsp., 2006</i>	oligozoospermia oligozoospermia	witamina C 1000 mg/2 × dziennie; 2 miesiące vitamin C 1000 mg/twice a day; 2 months	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm count, motility and morphology	5
<i>Landau i wsp., 1978</i>	oligozoospermia oligozoospermia	kwas foliowy 10 mg/3 × dziennie; 30 dni folic acid 10 mg/3 times a day; 30 days	brak efektu no effect	7
<i>Pryor i wsp., 1978</i>	oligozoospermia oligozoospermia	arginina 4 g/dziennie; 12 tygodni arginin 4 g/day; 12 weeks	brak efektu no effect	4
<i>Chen i wsp., 2012</i>	oligozoospermia lub astenozoospermia oligozoospermia or asthenozoospermia	oligozoospermia: Tamoksifen 10 mg/2 × dziennie, witamina E 100 mg/3 × dziennie; 3 miesiące astenozoospermia: L-karnityna roztwór/2 × dziennie, witamina E 100 mg/3 × dziennie; 3 miesiące oligozoospermia: Tamoxifen 10 mg/twice a day, vitamin E 100 mg/3 times a day; 3 months asthenozoospermia: L-carnitine solution/twice a day, vitamin E 100 mg/3 times a day; 3 months	oligozoospermia: odsetek spontanicznych ciąży u partnerek: 0% grupa kontrolna, 18% grupa badana astenozoospermia: poprawa ruchu plemników; odsetek spontanicznych ciąży u partnerek 25% grupa kontrolna i 40% grupa badana oligozoospermia: rate of spontaneous pregnancies: 0% – control group; 18% – treatment group asthenozoospermia: improvement of sperm motility; rate of spontaneous pregnancies: 25% – control group and 40% – treatment group	5
<i>Suzuki i wsp., 2003</i>	oligozoospermia i astenozoospermia oligozoospermia and asthenozoospermia	Spirei-to (lek ziołowy) 9 g/dziennie; 3 miesiące Spirei-to (herbal medicine) 9 g/day; 3 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	5
<i>Paradiso Galatioto i wsp., 2008</i>	oligozoospermia / 6 m. po embolizacji żyłaków powrózków nasiennych oligozoospermia / 6 m. after retrgrade embolization of varicocele	skład złożony: N-acetyl-cysteina + witaminy + minerały; 13 tygodni complex preparation: N-acetyl-cysteine + vitamins + minerale; 13 weeks	poprawa liczby plemników improvement of sperm count	1, 2, 3, 4

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Tikkiwal i wsp., 1987	idiopatyczna oligozoospermia idiopathic oligozoospermia	cynk 220 mg/dziennie; 4 miesiące zinc 220 mg/day; 4 months	poprawa liczby, ruchu, morfologii plemników; odsetek ciąż u partnerek 21% improvement of sperm count, motility and morphology; pregnancies rate – 21%	7
Shi i wsp., 2004	oligoasthenozoospermia oligoasthenozoospermia	XinXibao (tabletki z cynkiem i selenem), 3 × dziennie; 90 dni, następnie 5 tabletek/dziennie; 90 dni XinXibao (tablets with zinc and selenium), 3 times a day; 90 days followed with 5 tablets/day; 90 days	poprawa jakości nasienia po 60 i 90 dniach po leczeniu semen quality improvement after 60 and 90 days of treatment	5
Cavallini i wsp., 2004	oligoasthenozoospermia z żylakami powrózków nasiennych oligoasthenozoospermia with varicocele	L-karnityna 2 g/dziennie i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 2 g i acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa koncentracji, ruchliwości i morfologii plemników u pacjentów z żylakami powrózków nasiennych stopnia I, II i III; u pacjentów ze stadium IV i V – brak poprawy improvement of sperm concentration, motility and morphology in patient with the I, II and III degree of varicocele; no effect in patients with IV and V grade of varicocele	1, 2, 3, 4, 7
Cavallini i wsp., 2004	oligoasthenozoospermia z żylakami powrózków nasiennych oligoasthenozoospermia with varicocele	L-karnityna 2 g/dziennie i acetyl-L-karnityna 1 g/dziennie; 26 tygodni L-carnitine 2 g i acetyl-L-carnitine 1 g/day; 26 weeks	poprawa koncentracji, ruchliwości i morfologii plemników u pacjentów z żylakami powrózków nasiennych stopnia I, II i III; u pacjentów ze stadium IV i V – brak poprawy improvement of sperm concentration, motility and morphology in patient with the I, II and III degree of varicocele; no effect in patients with IV and V grade of varicocele	1, 2, 3, 4, 7
Ghanem i wsp., 2010	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	cytrynian kłomifenu 25 mg, witamina E 400 mg/dziennie; 6 miesięcy clomiphene citrate 25 mg, vitamin E 400 mg/day; 6 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników, odsetek spontanicznych ciąż: 36,7% w grupie badanej vs. 13,3% w grupie kontrolnej improvement of sperm concentration and motility; rate of spontaneous pregnancies: 36.7% in treatment group vs. 13.3% in control group	5
Giovenco i wsp., 1987	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	kalikreina 100 k.u./3 × dziennie lub witamina E 100 mg/3 × dziennie kallikrein 100 k.u./3 times a day or vitamin E 100 mg/3 times a day	poprawa liczby i zdolności penetracyjnej plemników po zażyciu kalikreiny; grupa otrzymująca witaminę E – brak efektu improvement of sperm count and penetration capacity after kallikrein treatment; no effect after vitamin E treatment	7
Marrama i wsp., 1985	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	pentoksyfilina 1200 mg/dziennie; 6 miesięcy pentoxifiline 1200 mg/day; 6 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	7
Song i wsp., 2012	idiopatyczna oligoasthenozoospermia idiopathic oligoasthenozoospermia	witamina E + Xuanju (preparat ziołowy) lub sama witamina E; 3 miesiące vitamin E + Xuanju (herbal medicine) or only Vitamin E; 3 months	spadek DFI w grupie zażywającej witaminę E i Xuanju decrease of DFI in group treated with vitamin E and Xuanju	5

DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*); (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) Ross i wsp., 2010; (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (5) Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; (7) Agarwal i Sekhon, 2011.

Tabela 1c. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1c. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Vezina i wsp., 1996	oligoasthenoteratozoospermia oligoasthenoteratozoospermia	selen 100 µg i witamina E 400 mg/dziennie; 1 miesiąc, następnie selen 200 µg i witamina E 400 mg/dziennie; 5 miesięcy selenium 100 µg and vitamin E 400 mg/day; 1 month, followed by selenium 200 µg and vitamin E 400 mg/day; 5 months	poprawa ruchu, morfologii i żywotności plemników improvement of sperm motility, morphology and vitality	3, 7

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Wirleitner i wsp.</i> , 2012	oligoasthenoteratozoospermia oligoasthenoteratozoospermia	fertilovit M plus (preparat złożony); 2–12 miesięcy fertilovit M plus ; 2–12 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	5
<i>Cavallini i wsp.</i> , 2012	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	L-karnityna 1 g, acetyl-L-karnityna 500 mg/ 2 × dziennie, 30 mg cinnoxamic/ raz dziennie co 4 dni; 3 miesiące L-carnitine 1 g, acetyl-L-carnitine 500 mg/twice a day, 30 mg cinnoxamic/every 4 days; 3 months	poprawa morfologii plemników, spadek częstości występowania aneuploidii plemników; odsetek uzyskanych ciąży (procedura ICSI) 50%; odsetek urodzeń żywych dzieci 45,4% improvement of sperm morphology, decrease of frequency of aneuploids sperm; rate of pregnancies 50% (ICSI procedure); rate of live births – 45.4%	5
<i>Gupta i Kumar</i> , 2002	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathi oligoasthenoteratozoospermia	likopen 2000 µg/2 × dziennie; 3 miesiące lycopene 2000 µg/twice a day; 3 months	poprawa koncentracji (66% pacjentów) i ruchu (53% pacjentów) plemników improvement of sperm concentration (66% of patients) and motility (53% of patients)	5, 7
<i>Nadjarzadeh i wsp.</i> , 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	koenzym Q10 200 mg/dziennie; 12 tygodni coenzyme Q10 200 mg/day; 12 weeks	wzrost całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, brak istotnej poprawy parametrów nasienia the increase of total antioxidant capacity, no significant improvement in semen parameters	5
<i>Raigani i wsp.</i> , 2013	oligoasthenoteratozoospermia oligoasthenoteratozoospermia	kwas foliowy 5mg i/lub cynk 220 mg/dziennie; 16 tygodni folic acid 5 mg and/or zinc 220 mg/day; 16 weeks	wzrost integralności chromatyny plemników w grupie otrzymującej tylko cynk; nieznamienna poprawa koncentracji plemników w grupie otrzymującej cynk i kwas foliowy i w grupie otrzymującej tylko kwas foliowy increase in sperm chromatin integrity in group treated with zinc alone; nonsignificant improvement sperm concentration in group treated with zinc and folic acid and in group treated only with folic acid	5
<i>Safarinejad</i> , 2009	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	koenzym Q 10 300 mg/dziennie; 26 tygodni coenzyme Q10 300 mg/day; 26 weeks	poprawa liczby i ruchu plemników improvement of sperm count and motility	4, 5
<i>Safarinejad i Safarinejad</i> , 2009	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	N-acetyl-cysteina 600 mg/dziennie lub N-acetyl-cysteina 600 mg, selen 200 µg/dziennie lub selen 200 µg/dziennie; 26 tygodni N-acetyl-cysteine 600 mg/day or N-acetyl-cysteine 600 mg, selenium 200 µg/day or lub selenium 200 µg/day; 26 weeks	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm count, motility and morphology	1, 2, 3, 4, 5, 7
<i>Safarinejad</i> , 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	kwas eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy 1,84 g/dziennie; 32 tygodnie eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids, 1.84 g per day 32 weeks	poprawa liczby i koncentracji plemników improvement of sperm count and concentration	5
<i>Safarinejad i wsp.</i> , 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	szafran 60 mg/dziennie; 26 tygodni saffron 60 mg/day; 26 weeks	brak efektu no effect	5
<i>Safarinejad</i> , 2011	idiopatyczna oligoasthenoteratozoospermia idiopathic oligoasthenoteratozoospermia	pentoksyfilina 400 mg/2 × dziennie; 28 tygodni pentoxifylline 400 mg/twice a day, 28 weeks	poprawa liczby, ruchu, morfologii plemników, wzrost aktywności SOD i katalazy, wzrost reakcji akrosomalnej plemników improvement of sperm count, motility and morphology, increase in SOD and catalase activity, improvement of acrosome reaction	5

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Safarinejad i wsp.</i> , 2012	idiopatyczna oligoasteno-teratozoospermia idiopathic oligoasthenoterozoospermia	koenzym Q10 200 mg/dziennie; 26 tygodni coenzyme Q10 200 mg/day; 26 weeks	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm count, motility and morphology	5
<i>Safarinejad</i> , 2012	idiopatyczna oligoasteno-teratozoospermia idiopathic oligoasthenoterozoospermia	koenzym Q10 300 mg/2 × dziennie; 12 miesięcy coenzyme Q10 300 mg/twice a day; 26 months	poprawa liczby, ruchu i morfologii plemników; odsetek uzyskanych spontanicznych ciąży u partnerek 34,1%; średni czas do uzyskania ciąży 8,4 ± 4,7 miesięcy improvement of sperm count, motility and morphology; rate of spontaneous pregnancies 34.1%, mean time to pregnancy 8.4% ± 4.7 months	5

ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); SOD – dysmutaza podantlenkowa (ang. *superoxide dismutase*). (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) *Ross i wsp.*, 2010; (2) *Zini i Al-Hathal*, 2011; (3) *Lombardo i wsp.*, 2011; (4) *Ko i Sabanegh*, 2012; (5) *Imamovic Kumalic i Pinter*, 2014; (7) *Agarwal i Sekhon*, 2011.

Tabela 1d. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1d. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Comhaire i wsp.</i> , 2000	obniżona płodność subfertility	N-acetyl-cysteina, witamina A 30 mg, witamina E 180 mg/dziennie; 3 miesiące N-acetyl-cysteine, vitamin A 30 mg, vitamin E 180 mg/day; 3 months	spadek poziomu RFT i 8-OHdG; wzrost koncentracji plemników u mężczyzn z oligozoospermią decrease of RFT level and 8-OHdG; increase of sperm concentration in oligozoospermic men	3, 5, 7
<i>Comhaire i wsp.</i> , 2005	obniżona płodność subfertility	astaksantyna 16 mg/dziennie; 13 tygodni astaxanthin 16 mg/day; 13 weeks	brak efektu no effect	1, 2, 6
<i>Ebisch i wsp.</i> , 2006	obniżona płodność subfertility	kwas foliowy 5 mg, cynk 66 mg/dziennie; 26 tygodni folic acid 5 mg, zinc 66 mg/day; 26 weeks	poprawa koncentracji plemników improvement of sperm concentration	2, 7
<i>Iwanier i Zachara</i> , 1995	obniżona płodność subfertility	selen 200 µg/dziennie; 3 miesiące selenium 200 µg/day; 3 months	brak efektu no effect	3
<i>Keskes-Ammar i wsp.</i> , 2003	obniżona płodność subfertility	witamina E 400 mg, selen 225 µg/dziennie; 13 tygodni vitamin E 400 mg, selenium 225 µg/dziennie; 13 weeks	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
<i>Roseff i wsp.</i> , 2002	obniżona płodność subfertility	piknogenol 200 mg/dziennie; 90 dni pycnogenol 200 mg/day; 90 days	poprawa morfologii i kapacytacji plemników; nieznamienisty spadek liczby plemników improvement of sperm morphology and capacitation; nonsignificant decrease of sperm count	5
<i>Wong i wsp.</i> , 2002	obniżona płodność subfertility	kwas foliowy 5 mg/dziennie i/lub cynk 66 mg/dziennie; 26 tygodni folic acid 5 mg/day and/or zinc 66 mg/day; 26 weeks	poprawa całkowitej liczby prawidłowych plemników improvement of total normal sperm count	1, 2, 3, 4, 7
<i>Lenzi i wsp.</i> , 1994	niepłodni mężczyźni infertile men	glutathion 600 mg domięśniowo/co drugi dzień; 2 miesiące glutathione 600 mg i.m./every 2 nd day; 2 months	poprawa koncentracji, ruchu i morfologii plemników improvement of sperm concentration, motility and morphology	3
<i>Abel i wsp.</i> , 1982	niepłodność infertility	witamina C 200 mg/dziennie; 6 miesięcy vitamin C 200 mg/Day; 6 months	brak efektu no effect	3
<i>De Rosa i wsp.</i> , 2005	niepłodność infertility	L-karnityna 1 g/dziennie lub 500 mg L-acetylo-karnityna/2 × dziennie; 6 miesięcy L-carnitine 1 g/day or 500 mg l-acetyl-carnitine/twice a day; 6 months	poprawa liczby, ruchu, żywotności, integralności DNA plemników improvement of sperm count, motility, viability, DNA integrity	4

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Kodama i wsp., 1997	niepłodność infertility	witamina C 200 mg, witamina E 200 mg, glutation 400 mg/dziennie; 2 miesiące vitamin C 200 mg, vitamin E 200 mg, glutathione 400 mg/day; 2 months	spadek poziomu 8-OHdG decrease of 8-OHdG level	2, 3
Lenzi i wsp., 2003	niepłodność infertility	L-karnityna 2 g/dziennie, 4 miesiące L-carnitine 2 g/day; 4 months	poprawa koncentracji i ruchu plemników improvement of sperm concentration and motility	2, 3, 7
Balercia i wsp., 2009	idiopatyczna niepłodność idiopathic infertility	koenzym Q10 100 mg/2 × dziennie; 6 miesięcy coenzyme Q10 100 mg/twice a day; 6 months	poprawa ruchu plemników improvement of sperm motility	4
Ciftci i wsp., 2009	idiopatyczna niepłodność idiopathic infertility	N-acetyl-cysteina 600 mg/dziennie, 13 tygodni N-acetyl-cysteine 600 mg/day; 13 weeks	poprawa ruchu plemników i całkowitej zdolności antyoksydacyjnej surowicy krwi, spadek indeksu całkowitego stresu peroksydacyjnego/oksydacyjnego improvement of sperm motility and total antioxidant capacity in serum; decrease of index of total peroxidative/oxidative stress	1, 2, 3, 4, 6
Moilanen i wsp., 1993	idiopatyczna niepłodność idiopathic infertility	witamina C 100 mg; 3 miesiące vitamin C 100 mg; 3 months	brak efektu no effect	2

8-OHdG – 8-hydrokso-2'-deoksyguanozyna (ang. *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxigene species*); (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) Ross i wsp., 2010; (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (5) Imamovic Kumalic i Pinter, 2014; (6) Gharagozloo i Aitken, 2011; (7) Agarwal i Sekhon, 2011

Tabela 1e. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1e. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Kessopoulou i wsp., 1995	niepłodność, podwyższony poziom RFT infertility, increased RFT level	witamina E 600 mg/dziennie; 3 miesiące vitamin E 600 mg/day; 3 months	brak efektu no effect	2, 3, 4, 7
Tunc i wsp., 2009	niepłodność, stres oksydacyjny infertility, oxidative stress	Menevit (preparat złożony); 3 miesiące Menevit (complex preparation); 3 months	spadek DFI, spadek wytwarzania RFT, wzrost protaminacji chromatyny plemników decrease in DFI, RFT production increase in sperm chromatin protamination	2
Greco i wsp., 2005	zwiększona fragmentacja DNA (> 15% DFI) increased DNA fragmentation (> 15% DFI)	witamina C 1000 mg i witamina E 1000 mg/dziennie; 9 tygodni vitamin C 1000 mg and vitamin E 1000 mg/day; 9 weeks	spadek fragmentacji DNA decrease in DNA fragmentation	1, 2, 3, 4, 5, 6
Greco i wsp., 2005	jedna nieudana próba ICSI; TUNEL > 15% one previous failure ICSI; TUNEL > 15%	witamina C 1 g, witamina E 1 g/dziennie; 2 miesiące vitamin C 1 g and vitamin E 1 g/day; 2 months	spadek uszkodzeń DNA, wzrost odsetka zapłodnień w procedurze ICSI decrease in sperm DNA damage; increased rate of fertilisation in ICSI procedure	2, 5, 6
Menezo i wsp., 2007	mężczyźni z par po 2 nieudanych próbach ICSI, DFI > 15%, dekondensacja chromatyny > 15% infertile men after 2 failure of ICSI, DFI > 15%, chromatin decondensation > 15%	witamina C 400 mg, witamina E 400 mg, cynk, selen, β-karoten; 3 miesiące vitamin C 400 mg, vitamin E 400 mg, zinc, selenium, β-karoten; 3 months	spadek DFI, ale wzrost dekondensacji chromatyny decrease of DFI but increase in chromatin decondensation	2, 5

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Gill-Villa i wsp.</i> , 2009	utrata ciąży u partnerek przed 12. tygodniem, podwyższone markery stresu oksydacyjnego (peroksydacja lipidów i DFI) pregnancy loss before 12 weeks, increased markers of oxidative stress (lipid peroxidation and DFI)	witamina C, witamina E, cynk, β-karoten; 3 miesiące vitamin C, vitamin E, zinc, β-carotene; 3 months	odsetek uzyskanych ciąż 67% rate of pregnancies – 67%	2
<i>Tremellen i wsp.</i> , 2007	nieprawidłowa morfologia, ruchliwość lub integralność błony plemnika, DFI > 25% abnormal morphology, motility and sperm membrane integrity; DFI > 25%	Menevit (preparat złożony), 13 tygodni Menevit (complex preparation); 13 weeks	wzrost odsetka żywych ciąż increase of live births rate	1, 2, 5

DFI – indeks fragmentacji DNA (ang. *DNA fragmentation index*); ICSI – docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ang. *intracytoplasmic sperm injection*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*); TUNEL – znakowanie końcówek nacięć nici DNA przy użyciu terminalnej transferazy deoksynukleotydowej (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUDP nic-end labelling, TUNEL*); (*) nr pracy poglądowej / review no: (1) *Ross i wsp.*, 2010; (2) *Zini i Al-Hathal*, 2011; (3) *Lombardo i wsp.*, 2011; (4) *Ko i Sabanezh*, 2012; (5) *Imamovic Kumalic i Pinter*, 2014; (6) *Gharagozloo i Aitken*, 2011; (7) *Agarwal i Sekhon*, 2011.

Tabela 1f. Lista badań klinicznych omówionych w przedstawionych pracach poglądowych z uwzględnieniem grupy badanej, zastosowanego antyoksydanta, jego dawki, czasu trwania terapii oraz uzyskanych efektów

Table 1f. List of clinical trials reviewed in presented reviews taking into account a target group, used antioxidant, its dose, therapy duration and obtained effects

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
<i>Hawkes i wsp.</i> , 2009	normozoospermia normozoospermia	selen 300 µg/dziennie; 48 tygodni selenium 300 µg/day; 48 weeks	brak efektu no effect	2
<i>Geva i wsp.</i> , 1996	plodni ochotnicy z normozoospermia fertile volunteers with normozoospermia	witamina E 200 mg/dziennie; 3 miesiące vitamin E 200 mg/day; 3 months	brak efektu no effect	3, 6
<i>Moilanen i Hovatta</i> , 1995	ochotnicy volunteers	witamina E 600 mg, lub 800 mg lub 1200 mg/dziennie; 3 tygodnie vitamin E 600 mg, or 800 mg Or 1200 mg/day; 3 weeks	brak efektu no effect	3, 7
<i>Fraga</i> , 1991	ochotnicy palacze i niepalacze volunteers smokers and non-smokers	witamina C 5 lub 60 lub 250 mg/dziennie; 15 tygodni vitamin C 5 or 60 or 250 mg/day; 15 weeks	poprawa jakości DNA plemników improvement of sperm DNA quality	6
<i>Dawson i wsp.</i> , 1992	nałogowi palacze heavy smokers	witamina C 1 g/dziennie lub witamina C 200 mg/dziennie; 1 miesiąc vitamin C 1 g/day or vitamin C 200 mg/day; 1 month	poprawa liczby, ruchu, żywotności i morfologii plemników zależna od dawki improvement of sperm count, motility, viability and morphology (dose-dependent)	2, 4
<i>Mahajan i wsp.</i> , 1982	dysfunkcja gonad u pacjentów z mocznicą gonadal dysfunction in uremic patients	cynk 50 mg/dziennie; 6 miesięcy zinc 50 mg/day; 6 months	poprawa koncentracji plemników improvement of sperm concentration	2
<i>Vicari i Calogero</i> , 2001	niebakteryjny stan zapalny prostaty, pęcherzyków nasiennych i najądrzy bez (grupa A) i z leukocytospermia (grupa B) abacterial prostate-vesiculo-epididymitis (PVE) without (group A) or with leukocytospermia (group B)	L-karnityna 1 g i L-acetyl-karnityna 500 mg/2 × dziennie; 3 miesiące L-carnitine 1 g i L-acetyl-carnitine 500 mg/2 × a day; 3 months	grupa A: poprawa ruchu i żywotności plemników, spadek wytwarzania RFT; grupa B: poprawa żywotności plemników; odsetek spontanicznych ciąż u partnerek: grupa – A 11,7%, grupa B – 0% group A: improvement of sperm motility and vitality, decrease in RFT production; group B: improvement of sperm vitality rate of spontaneous pregnancies: group – A 11.7%, group B – 0%	3

Badanie kliniczne Clinical trial	Grupa badana Target group	Antyoksydant/dawka/czas trwania terapii Antioxidant/dose/therapy duration	Uzyskane efekty Achieved effects	Nr pracy przeglądowej* Review no*
Vicari i wsp., 2002	niebakteryjny stan zapalny prostaty, pęcherzyków nasiennych i najądrzy z leukocytospermią abacterial prostatic-vesiculo-epididymitis (PVE) and leukocytospermia	grupa A: L-karnityna 1 g i L-acetyl-karnityna 500 mg/2 × dziennie; 4 miesiące grupa B: NLPZ; 4 miesiące grupa C: NLPZ; 2 miesiące następnie 1 g L-karnityna i 500 mg L-acetyl-karnityna/2 × dziennie; 2 miesiące grupa D: NLPZ i 1g L-karnityna i 500 mg L-acetyl-karnityna/2 × dziennie; 4 miesiące group A: L-carnitine 1 g and acetyl-L-carnitine 500 mg/2 × a day; 4 months group B: NLPZ; 4 months group C: NLPZ; 2 months followed L-carnitine 1 g and L-acetyl-carnitine 500 mg/2 × a day; 2 months group D: NLPZ and L-carnitine 1 g and L-acetyl-karnityna 500 mg/2 × a day; 4 months	grupa C: największy spadek wytwarzania RFT, poprawa ruchu i żywotności plemników grupa B i D – umiarkowana poprawa badanych parametrów grupa A – brak efektu odsetek spontanicznych ciąży u partnerek – 8,2% (grupa B – 1, grupa C – 6, grupa d – 1) group C: the highest reduction in production of RFT, increased sperm motility and viability, group B and D – intermediate effects group A – no effect rate of spontaneous pregnancies – 8.2% (group B – 1, group C – 6, group D – 1)	3, 4
Lenzi i wsp., 1993	niepłodni mężczyźni z jednostronnymi żylakami powrózków nasiennych lub zapaleniem dróg wyprowadzających nasienie infertile men with unilateral varicocele or genital tract inflammation	glutathion 600 mg domięśniowo/co drugi dzień; 2 miesiące glutathione 600 mg i.m./every 2 nd day; 2 months	poprawa ruchu i morfologii plemników improvement of sperm motility and morphology	2, 3, 4

NLPZ – niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*); RFT – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxigene species*), (*) nr pracy poglądowej / review no: (2) Zini i Al-Hathal, 2011; (3) Lombardo i wsp., 2011; (4) Ko i Sabanegh, 2012; (6) Gharagozloo i Aitken, 2011; (7) Agarwal i Sekhon, 2011

przedstawionych przez autorów dotyczących jakości metodologicznej większości z nich był brak oceny częstości wystąpienia ciąży u partnerek jako kluczowego efektu końcowego. Wskazywali oni na fakt, że poprawa parametrów badania nasienia stosowana najczęściej jako oceniany efekt końcowy terapii nie zawsze przekłada się na uzyskanie ciąży u partnerki, gdyż mężczyźni z prawidłowymi parametrami nasienia mogą w dalszym ciągu wykazywać obniżony potencjał zapładniający. Wśród analizowanych przez autorów artykułów w 15 raportowano odsetek uzyskanych ciąży jako efekt końcowy terapii antyoksydantami. W dwóch uzyskano wyższy odsetek uzyskanych ciąży, jednak nie był on znamieny statystycznie. W dwóch następnych badaniach grupa mężczyzn, której podawano witaminę C, była porównywana z grupą mężczyzn, którzy otrzymywali cytrynian kłomifenu (selektywny modulator receptora estrogenowego) lub mesterolone (pochodna dihydrotestosteronu o silnym działaniu androgennym). Odsetek ciąży był niższy w grupach mężczyzn otrzymujących witaminę C. W dwóch kolejnych badaniach nie zanotowano żadnego wpływu podawania antyoksydantów na odsetek uzyskanych ciąży, jednak w pozostałych badaniach był on statystycznie znamienne wyższy w grupach mężczyzn leczonych antyoksydantami. W czterech badaniach, w których zanotowano wzrost odsetka uzyskanych ciąży, uzyskano także poprawę co najmniej jednego z parametrów nasienia i zawsze wśród tych parametrów poprawie ulegała ruchliwość plemników. Wydaje

się, że antyoksydantami, których podawanie zwiększa odsetek ciąży, są witamina A, E i karnityna. Dodatkowo, autorzy tego przeglądu podkreślają fakt, że znaczne obniżenie poziomu RFT poprzez egzogenne antyoksydanty może wpływać negatywnie na płodność mężczyzn, jako że RFT są niezbędne w procesach prowadzących do uzyskania przez plemnik zdolności do zapłodnienia komórki jajowej (kapacytacja, hiperaktywacja, reakcja akrosomalna).

Gharagozloo i Aitken (2011) postanowili przyjrzeć się dokładniej badaniom klinicznym nad efektem podawania antyoksydantów na stres oksydacyjny w plemnikach lub uszkodzenie ich DNA. Na 20 analizowanych badań w 19 wykazano znamiennej redukcję stresu oksydacyjnego lub poprawę jakości DNA w plemnikach po zastosowaniu terapii antyoksydantami. Spośród parametrów badania nasienia w żadnym z badań nie zaobserwowano wpływu antyoksydantów na poprawę morfologii, a tylko w 3 zanotowano poprawę koncentracji plemników. Z kolei w 10 z 16 badań zanotowano poprawę ruchliwości plemników, przy czym warto zauważyć, że parametr ten ulegał zawsze poprawie, gdy terapii poddana była grupa mężczyzn, u których kryterium włączenia do badania była astenozoospermia (7 badań). W 10 z analizowanych badań jednym z badanych efektów końcowych był odsetek uzyskanych ciąży i w 6 z nich było on wyższy po podawaniu antyoksydantów. Biorąc także pod uwagę fakt, że parametry nasienia mogą ulec poprawie po zastosowaniu antyoksydantów o właściwościach

hydrofilowych, jak i lipofilowych, autorzy podsumowania postanowili dokładniej przeanalizować wpływ łącznego podawania antyoksydantów pochodzących z tych dwóch grup, włączając do analizy 12 artykułów. Witamina E, antyoksydant lipofilowy, była najczęściej używana w badaniach razem z takimi antyoksydantami hydrofilowymi jak witamina C, selen czy cynk. Niestety, wyniki uzyskane z tych badań odzwierciedlają te uzyskane po podawaniu antyoksydantów pojedynczo, co nie potwierdziło spodziewanego synergistycznego lub też addytywnego efektu ich łącznego podawania. Podsumowując, autorzy jednoznacznie wskazują na to, że terapia antyoksydantami redukuje stres oksydacyjny w nasieniu i wpływa na poprawę ruchliwości u pacjentów z athenozoospermia, jednakże nie można jednoznacznie stwierdzić, czy efekty te przekładają się na uzyskanie ciąży i ich donoszenie.

W kolejnym podsumowaniu *Ko i Sabanegh* (2012) wybrali do swojej analizy 22 randomizowane badania kliniczne z ostatnich 30 lat, w których badanymi antyoksydantami były między innymi karnityny, koenzym Q10, kwas foliowy, glutation, likopen, N-acetyl-cysteina, witaminy A, C i E oraz selen i cynk. Autorzy analizując dodatkowo inne dostępne badania dotyczące źródeł badanych antyoksydantów w pożywieniu, ich zalecanego dziennego spożycia (RDA, ang. *recommended dietary allowance*) oraz biodostępności przy doustnym przyjmowaniu, a także skutków ubocznych, pokusili się o wyciągnięcie wniosków na temat ich optymalnej dawki przy leczeniu męskiej niepłodności. I tak, według analizy przedstawionej przez autorów artykułu, wydaje się, że w przypadku karnityn dawka nieprzekraczająca 3 g/dziennie przedstawia potencjalne korzyści przy leczeniu męskiej niepłodności. Kwas foliowy jest dobrze tolerowany w dawce nieprzekraczającej 1 mg/dziennie, podczas gdy 5 mg może powodować już skutki uboczne. Z drugiej strony już dawki 800–1200 µg mogą być przyczyną wzrostu ryzyka zawału mięśnia sercowego u pacjentów kardiologicznych. Autorzy dodatkowo sugerują, że chociaż kwas foliowy jest potrzebny dla prawidłowego przebiegu spermatogenezy, to nie ma przekonujących dowodów na to, że jego dodatkowe spożycie, ponad RDA, które zapewnia zbilansowana dieta, wpłynie korzystnie na męską płodność. Jeśli chodzi o koenzym Q10, to wydaje się, że optymalna dawka mieści się w zakresie 200–300 mg/dzień i w niektórych przypadkach może ona być zwiększona do 12 mg/kg/dzień. Chociaż suplementacja glutationem nieprzekraczająca 3 g/dziennie nie wykazuje skutków ubocznych, a sam glutation wpływa korzystnie na jakość nasienia, to jego niska biodostępność po doustnym spożyciu i potrzeba przyjmowania go w postaci domięśniowych wstrzyknięć powoduje, że jego wykorzystanie w terapii męskiej niepłodności jest ograniczone. Jeśli chodzi o likopen, to wydaje się, że jego dodatkowa suplementacja przy diecie bogatej w pomidory jest niepotrzebna, chociaż można rozważyć jej stosowanie przy diecie ubogiej lub

z różnych innych względów niezawierającej pomidorów. Optymalną dawką dla N-acetyl-cysteiny wydaje się być 600 mg/dzień. Jednakże podobnie jak przy glutationie, chociaż wydaje się ona wpływać dodatnio na męską płodność, to niska biodostępność przy doustnym przyjmowaniu, a także poważne skutki uboczne ograniczają jej wykorzystanie. Jest mało prawdopodobne, aby przyjmowanie witaminy A w dawce 10000 IU/dziennie powodowało wystąpienie skutków ubocznych. Jednakże odkłada się ona w organizmie i przy długotrwałym przyjmowaniu wysokich dawek (więcej niż 4000 IU/kg/dzień) może dojść do wystąpienia poważnych skutków ubocznych. Chociaż brak jest danych dotyczących wpływu podawania samej witaminy A na męską płodność, to jej podawanie wraz z innymi antyoksydantami (witamina E, C, selen, N-acetylcysteina, cynk) wykazywało dodatni efekt na parametry nasienia takie jak ruchliwość plemników. Autorzy podsumowania sugerują jednak, że nie ma jednoznacznych wskazań do dodatkowej suplementacji witaminą A przy odpowiednim spożyciu bogatych w nią produktów spożywczych. Z kolei, według autorów dawka witaminy C nie powinna przekraczać 500 mg/dziennie, a optymalna dawka dla witaminy E powinna być niższa niż 1000 mg/dziennie (1600 IU/dziennie). Z powodu możliwości wystąpienia poważnych hematologicznych i sercowo-naczyniowych skutków ubocznych autorzy rekomendują dawkę dla witaminy E w zakresie 200–400 IU/dziennie. Optymalna dawka dla suplementacji selenem wydaje się mieścić między 100 a 210 µg/dziennie. Dla cynku RDA wynosi 11 mg/dziennie, a potencjalne efekty uboczne mogą być obserwowane przy 200 mg, z kolei poważne działania niepożądane przy dawce większej niż 450 mg/dziennie. Podsumowując, autorzy tego opracowania przestrzegają przed powszechnym używaniem suplementów diety czy witamin sprzedawanych bez recepty w dawkach przekraczających RDA, wskazując przy tym, że dawki te mogą być uzyskane przez odpowiednio zbilansowaną dietę.

W opublikowanym w ostatnim czasie przeglądzie piśmiennictwa *Imamaovic Kumalic i Pinter* (2014) przeanalizowali 32 badania kliniczne opublikowane w okresie od 1 stycznia 2000 r. do 31 grudnia 2013 r., badające wpływ podawania antyoksydantów u mężczyzn z iOAT. W 13 z nich wykazano dodatni wpływ badanych antyoksydantów na koncentrację plemników, przy czym w większości tych badań pacjenci otrzymywali połączenie różnych antyoksydantów, tj.: L-karnityny, koenzymu Q10, witaminy E i C, cynku czy selenu. Podobnie jak w poprzednich podsumowaniach, poprawę ruchliwości plemników zanotowano w największej ilości analizowanych badań (20/32), przy czym, podobnie jak przy koncentracji plemników, pacjenci otrzymywali terapię łączoną, w której głównymi składnikami były witamina E i selen. Poprawę morfologii plemników wykazano w 10 z analizowanych publikacji. Niestety, pomimo wykorzystania do swojej analizy nowszych badań niż te analizowane w poprzednich podsumowaniach (16

badania opublikowanych w latach 2010–2013, nieanalizowane w poprzednich podsumowaniach) w dalszym ciągu tylko w 6 analizowano jako efekt końcowy jakość plemnikowego DNA, przy czym w każdym z nich zanotowano poprawę badanego parametru oceniającego fragmentację DNA czy integralność chromatyny. Badane antyoksydanty, które wpływały na jakość DNA, to głównie witamina C i E podawane łącznie oraz cynk i selen. W podsumowaniu autorzy wskazują, że korzystny wpływ na parametry nasienia w przypadku iOAT miały głównie koenzym Q10, witamina E, C, selen, i N-acetyl-cysteina. W przypadku oligozoospermii najczęściej dodatni wpływ był udokumentowany dla witaminy E i koenzymu Q10, w przypadku astenoospermii – witaminy E, selenu i koenzymu Q10, a w przypadku teratoospermii – selenu i koenzymu Q10.

Stres oksydacyjny uważany jest obecnie za jedną z głównych przyczyn męskiej niepłodności. Jego obecność koreluje z zaburzeniem ruchliwości, liczby, morfologii i czynności plemników. Wiele badań wykazało dodatni wpływ podawania różnych substancji, o udowodnionym działaniu antyoksydacyjnym, na poprawę parametrów nasienia, czynności plemników czy odsetek uzyskanych ciąż u partnerek. I tak, antyoksydanty takie jak witamina E, C, selen, cynk, karnityna, wydają się korzystnie wpływać na poprawę parametrów nasienia oraz jakości plemników w wyniku zmniejszenia poziomu RFT, spadku peroksydacji lipidów błon komórkowych i uszkodzeń DNA. Jednakże w badaniach tych występuje duże zróżnicowanie, jeśli chodzi o typ, dawki oraz czas podawania antyoksydantów, przy czym w wielu z nich kryteria włączenia opierają się głównie na analizie parametrów podstawowego badania nasienia, a nie na parametrach jednoznacznie wskazujących na występowanie w nasieniu stresu oksydacyjnego. Dodatkowo, grupy badane były mało liczne, często bez odpowiedniej kontroli, a analizowane efekty końcowe dotyczą głównie parametrów badania nasienia rzadziej, odsetka uzyskanych i donoszonych ciąż. Tak więc, zanim suplementacja antyoksydantami wejdzie do rutynowego postępowania medycznego w leczeniu męskiej niepłodności, niezbędne są, po pierwsze, ogólna dostępność badań diagnostycznych oceniających stres oksydacyjny w nasieniu i plemnikach, po drugie, przeprowadzenie dużych, randomizowanych, kontrolowanych placebo, wielośrodkowych badań potwierdzających, że okołokoncepcyjna suplementacja mężczyzn poszczególnymi antyoksydantami powoduje poprawę parametrów nasienia i czynności plemników oraz istotny wzrost odsetka żywych urodzeń u ich partnerek.

Podziękowania

Praca napisana w ramach grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/1-089-03/503-01 i grantu NCN nr UMO-2012/05/B/NZ5/01308

■ Piśmiennictwo

- Abd-Elmoaty M.A., Saleh R., Sharma R., Agarwal A.*: Increased levels of oxidants and reduced antioxidants in semen of infertile men with varicocele. *Fertil Steril.* 2010, 94, 1531–1534.
- Agarwal A., Makker K., Sharma R.*: Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol.* 2008, 59, 2–11.
- Agarwal A., Nallella K.P., Allamaneni S.S., Said T.M.*: Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online.* 2004, 8, 616–627.
- Agarwal A., Sekhon L.H.*: The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Hum Fertil (Camb).* 2010, 13, 217–225.
- Agarwal A., Virk G., Ong C., du Plessis S.S.*: Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health.* 2014, 32, 1–17.
- Aitken R.J., Buckingham D.W., Carreras A., Irvine D.S.*: Superoxide dismutase in human sperm suspensions: relationship with cellular composition, oxidative stress, and sperm function. *Free Radic Biol Med.* 1996, 21, 495–504.
- Aitken R.J., Buckingham D., Harkiss D.*: Use of a xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1993a, 97, 441–450.
- Aitken R.J., Clarkson J.S., Hargreave T.B., Irvine D.S., Wu F.C.*: Analysis of the relationship between defective sperm function and the generation of reactive oxygen species in cases of oligozoospermia. *J Androl.* 1989, 10, 214–220.
- Aitken R.J., De Iulius G.N.*: On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod.* 2010, 16, 3–13.
- Aitken R.J., De Iulius G.N., Finnie J.M., Hedges A., McLachlan R.I.*: Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2010, 25, 2415–2426.
- Aitken R.J., Fisher H.M., Fulton N., Gomez E., Knox W., Lewis B. i wsp.*: Reactive oxygen species generation by human spermatozoa is induced by exogenous NADPH and inhibited by the flavoprotein inhibitors diphenylene iodonium and quinacline. *Mol Reprod Dev.* 1997, 47, 468–482.
- Aitken R.J., Harkiss D., Buckingham D.*: Relationship between iron-catalysed lipid peroxidation potential and human sperm function. *J Reprod Fertil.* 1993b, 98, 257–265.
- Aitken R.J., Smith T.B., Jobling M.S., Baker M.A., De Iulius G.N.*: Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl.* 2014, 16, 31–38.
- Aitken R.J., Whiting S., De Iulius G.N., McClymont S., Mitchell L.A., Baker M.A.*: Electrophilic aldehydes generated by sperm metabolism activate mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis by targeting succinate dehydrogenase. *J Biol Chem.* 2012, 287, 33048–33060.
- Alvarez J.G., Storey B.T.*: Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol Reprod Dev.* 1995, 42, 334–346.
- Alvarez J.G., Touchstone J.C., Blasco L., Storey B.T.*: Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *J Androl.* 1987, 8, 338–348.
- Aoki V.W., Emery B.R., Liu L., Carrell D.T.*: Protamine levels vary between individual sperm cells of infertile human males and correlate with viability and DNA integrity. *J Androl.* 2006, 27, 890–898.
- Appasamy M., Muttukrishna S., Pizzey A.R., Ozturk O., Groome N.P., Serhal P. i wsp.*: Relationship between male reproductive hormones, sperm DNA damage and markers of oxidative stress in infertility. *Reprod Biomed Online.* 2007, 14, 159–165.
- Atig F., Kerkeni A., Saad A., Ajina M.*: Effects of reduced seminal enzymatic antioxidants on sperm DNA fragmentation and semen quality of Tunisian infertile men. *J Assist Reprod Genet.* 2013, doi: 10.1007/s10815-013-9936-x.

- Atig F., Raffa M., Ali H.B., Abdelhamid K., Saad A., Ajina M.: Altered antioxidant status and increased lipid per-oxidation in seminal plasma of tunisian infertile men. *Int J Biol Sci.* 2012, 8, 139–149.
- Benchai M., Lornage J., Mazoyer C., Lejeune H., Salle B., Francois Guerin J.: Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. *Fertil Steril.* 2007, 87, 93–100.
- Benedetti S., Tagliamonte M.C., Catalani S., Primiterra M., Canestrari F., De Stefani S. *i wsp.*: Differences in blood and semen oxidative status in fertile and infertile men, and their relationship with sperm quality. *Reprod Biomed Online.* 2012, 25, 300–306.
- Bogenhagen D.F.: Repair of mtDNA in vertebrates. *Am J Hum Genet.* 1999, 64, 1276–1281.
- Bungum M., Humaidan P., Axmon A., Spano M., Bungum L., Erenpreiss J. *i wsp.*: Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod.* 2007, 22, 174–179.
- Cummins J.M., Jequier A.M., Kan R.: Molecular biology of human male infertility: links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress? *Mol Reprod Dev.* 1994, 37, 345–362.
- D'Autreaux B., Toledano M.B.: ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007, 8, 813–824.
- Davies M.J., Moore V.M., Willson K.J., Van Essen P., Priest K., Scott H. *i wsp.*: Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 2012, 366, 1803–1813.
- De Iulius G.N., Thomson L.K., Mitchell L.A., Finnie J.M., Koppers A.J., Hedges A. *i wsp.*: DNA damage in human spermatozoa is highly correlated with the efficiency of chromatin remodeling and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidative stress. *Biol Reprod.* 2009, 81, 517–524.
- Erenpreiss J., Elzanaty S., Giwercman A.: Sperm DNA damage in men from infertile couples. *Asian J Androl.* 2008, 10, 786–790.
- Evenson D.P., Wixon R.: Data analysis of two in vivo fertility studies using Sperm Chromatin Structure Assay-derived DNA fragmentation index vs. pregnancy outcome. *Fertil Steril.* 2008, 90, 1229–1231.
- Evenson D., Wixon R.: Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. *Reprod Biomed Online.* 2006, 12, 466–472.
- Fraga C.G., Motchnik P.A., Shigenaga M.K., Helbock H.J., Jacob R.A., Ames B.N.: Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991, 88, 11003–11006.
- Frączek M., Kurpisz M.: Stres oksydacyjny w nasieniu. W: Układ płciowy męski. Badania kliniczne i doświadczalne. Red. M. Piasecka Wydawnictwo Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Szczecin, 2013.
- Gharagozloo P., Aitken R.J.: The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum Reprod.* 2011, 26, 1628–1640.
- Gil-Guzman E., Ollero M., Lopez M.C., Sharma R.K., Alvarez J.G., Thomas A.J., Jr. *i wsp.*: Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum Reprod.* 2001, 16, 1922–1930.
- Gil-Villa A.M., Cardona-Maya W., Agarwal A., Sharma R., Cadavid A.: Assessment of sperm factors possibly involved in early recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2010, 94, 1465–1472.
- Gonzalez-Marin C., Gosalvez J., Roy R.: Types, causes, detection and repair of DNA fragmentation in animal and human sperm cells. *Int J Mol Sci.* 2012, 13, 14026–14052.
- Griveau J.F., Dumont E., Renard P., Callegari J.P., Le Lannou D.: Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1995, 103, 17–26.
- Grosicka-Maciąg E.: Biological consequences of oxidative stress induced by pesticides. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2011, 65, 357–366.
- Guz J., Gackowski D., Foksiński M., Różalski R., Zarakowska E., Siomek A. *i wsp.*: Comparison of oxidative stress/DNA damage in semen and blood of fertile and infertile men. *PLoS One.* 2013, 8, e68490. doi: 10.1371/journal.pone.0068490.
- Hansen M., Bower C.: The impact of assisted reproductive technologies on intra-uterine growth and birth defects in singletons. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014, 19, 228–233.
- Hong C.Y., Lee M.F., Lai L.J., Wang C.P.: Effect of lipid peroxidation on beating frequency of human sperm tail. *Andrologia.* 1994, 26, 61–65.
- Hsieh Y.Y., Chang C.C., Lin C.S.: Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *Int J Biol Sci.* 2006, 2, 23–29.
- 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, doi: 10.1155/2014/426951
- Iwasaki A., Gagnon C.: Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril.* 1992, 57, 409–416.
- Jędrzejczak P., Frączek M., Szumala-Kąkol A., Taszarek-Hauke G., Pawelczyk L., Kurpisz M.: Consequences of semen inflammation and lipid peroxidation on fertilization capacity of spermatozoa in in vitro conditions. *Int J Androl.* 2005, 28, 275–283.
- Kazienko A., Piasecka M., Rymaszewska A., Gączarzewicz D., Kurzawa R., Frączek M. *i wsp.*: Molekularne markery niepłodności męskiej: zaburzenia transkrypcji i translacji protamin chromatyny plemnika – część II. *Post Biol Kom.* 2012, 39, 371–394.
- Kemal Duru N., Morshedi M., Oehninger S.: Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril.* 2000, 74, 1200–1207.
- Kennedy C., Ahlering P., Rodriguez H., Levy S., Sutovsky P.: Sperm chromatin structure correlates with spontaneous abortion and multiple pregnancy rates in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2011, 22, 272–276.
- Khosravi F., Valojerdi M.R., Amanlou M., Karimian L., Abolhassani F.: Relationship of seminal reactive nitrogen and oxygen species and total antioxidant capacity with sperm DNA fragmentation in infertile couples with normal and abnormal sperm parameters. *Andrologia.* 2012, doi: 10.1111/and.12034.
- Ko E.Y., Sabanegh E.S., Jr.: The role of over-the-counter supplements for the treatment of male infertility – fact or fiction? *J Androl.* 2012, 33, 292–308.
- Kobayashi T., Miyazaki T., Natori M., Nozawa S.: Protective role of superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and lipid peroxide in human seminal plasma and spermatozoa. *Hum Reprod.* 1991, 6, 987–991.
- Kumar K., Deka D., Singh A., Mitra D.K., Vanitha B.R., Dada R.: Predictive value of DNA integrity analysis in idiopathic recurrent pregnancy loss following spontaneous conception. *J Assist Reprod Genet.* 2012, 29, 861–867.
- de Lamirande E., Gagnon C.: Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *J Androl.* 1992a, 13, 368–378.
- de Lamirande E., Gagnon C.: Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J Androl.* 1992b, 13, 379–386.
- Lewis S.E., Sterling E.S., Young I.S., Thompson W.: Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 1997, 67, 142–147.

- Liu C.Y., Lee C.F., Hong C.H., Wei Y.H.: Mitochondrial DNA mutation and depletion increase the susceptibility of human cells to apoptosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2004, 1011, 133–145.
- 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, 690–697.
- Maettner R., Sterzik K., Isachenko V., Strehler E., Rahimi G., Alabart J.L. *i wsp.*: Quality of human spermatozoa: relationship between high-magnification sperm morphology and DNA integrity. *Andrologia.* 2014, 46, 547–555.
- Mahanta R., Gogoi A., Chaudhury P.N., Roy S., Bhattacharyya I.K., Sharma P.: Association of oxidative stress biomarkers and antioxidant enzymatic activity in male infertility of north-East India. *J Obstet Gynaecol India.* 2012, 62, 546–550.
- Mehdi M., Khantouche L., Ajina M., Saad A.: Detection of DNA fragmentation in human spermatozoa: correlation with semen parameters. *Andrologia.* 2009, 41, 383–386.
- Meister A.: Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem.* 1988, 263, 17205–17208.
- Menezes Y., Dale B., Cohen M.: DNA damage and repair in human oocytes and embryos: a review. *Zygote.* 2010, 18, 357–365.
- Meseguer M., Santiso R., Garrido N., Garcia-Herrero S., Remohi J., Fernandez J.L.: Effect of sperm DNA fragmentation on pregnancy outcome depends on oocyte quality. *Fertil Steril.* 2011, 95, 124–128.
- Miesel R., Jędrzejczak P.J., Kurpisz M.: Oxidative stress during the interaction of gametes. *Biol Reprod.* 1993, 49, 918–923.
- Nakada K., Sato A., Yoshida K., Morita T., Tanaka H., Inoue S. *i wsp.*: Mitochondria-related male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006, 103, 15148–15153.
- Oleszczuk K., Augustinsson L., Bayat N., Giwercman A., Bungum M.: Prevalence of high DNA fragmentation index in male partners of unexplained infertile couples. *Andrology.* 2013, 1, 357–360.
- Ollero M., Gil-Guzman E., Lopez M.C., Sharma R.K., Agarwal A., Larson K. *i wsp.*: Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Hum Reprod.* 2001, 16, 1912–1921.
- Parinaud J., Le Lannou D., Vieitez G., Griveau J.F., Milhet P., Richoille G.: Enhancement of motility by treating spermatozoa with an antioxidant solution (Sperm-Fit) following ejaculation. *Hum Reprod.* 1997, 12, 2434–2436.
- Pasqualotto F.F., Sharma R.K., Nelson D.R., Thomas A.J., Agarwal A.: Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. *Fertil Steril.* 2000, 73, 459–464.
- Piasecka M.: Morfologia i funkcja mitochondriów plemnika a męska płodność. Część II. Zaburzenia morfologiczno-funkcjonalne mitochondriów wstawki plemnika. *Post Biol Kom.* 2004, 31, 489–516.
- Piasecka M., Gączarzewicz D., Laszczyńska M.: Evaluation of sperm genomic integrity of normozoospermic men: a prospective study. *Folia Histochem Cytobiol.* 2006, 44, 117–122.
- Piasecka M., Gączarzewicz D., Laszczyńska M., Starczewski A., Brodowska A.: Flow cytometry application in the assessment of sperm DNA integrity of men with asthenozoospermia. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007, 45 Suppl 1, 127–136.
- Piasecka M., Gill K., Gączarzewicz D., Kazienko A., Rosiak A., Udała J. *i wsp.*: Znaczenie morfologicznej oceny plemników w diagnostyce seminologicznej. W: Układ płciowy męski. Badania kliniczne i doświadczalne. Red. M. Piasecka. Wyd. Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, Szczecin 2013, 97–123
- Potts R.J., Notarianni L.J., Jefferies T.M.: Seminal plasma reduces exogenous oxidative damage to human sperm, determined by the measurement of DNA strand breaks and lipid peroxidation. *Mutat Res.* 2000, 447, 249–256.
- Przybyszewski W.M., Kasperczyk J., Stokłosa K., Bkhiyan A.: DNA damage induced by products of lipid peroxidation. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2005, 59, 75–81.
- Rao B., Soufir J.C., Martin M., David G.: Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. *Gamete Res.* 1989, 24, 127–134.
- Rivlin J., Mendel J., Rubinstein S., Etkovitz N., Breitbart H.: Role of hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction. *Biol Reprod.* 2004, 70, 518–522.
- Robinson L., Gallos I.D., Conner S.J., Rajkhowa M., Miller D., Lewis S. *i wsp.*: The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2012, 27, 2908–2917.
- Ross C., Morriss A., Khairy M., Khalaf Y., Braude P., Coomarasamy A. *i wsp.*: A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online.* 2010, 20, 711–723.
- Sanocka D., Miesel R., Jędrzejczak P., Kurpisz M.K.: Oxidative stress and male infertility. *J Androl.* 1996, 17, 449–454.
- Shamsi M.B., Kumar R., Bhatt A., Bamezai R.N., Gupta N.P., Das T.K. *i wsp.*: Mitochondrial DNA Mutations in etiopathogenesis of male infertility. *Indian J Urol.* 2008, 24, 150–154.
- Sikka S.C.: Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci.* 1996, 1, 78–86.
- Sivanarayana T., Krishna Ch R., Prakash G.J., Krishna K.M., Madan K., Rani B.S. *i wsp.*: CASA derived human sperm abnormalities: correlation with chromatin packing and DNA fragmentation. *J Assist Reprod Genet.* 2012, 29, 1327–1334.
- Smith R., Vantman D., Ponce J., Escobar J., Lissi E.: Total antioxidant capacity of human seminal plasma. *Hum Reprod.* 1996, 11, 1655–1660.
- Taylor R.W., Turnbull D.M.: Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet.* 2005, 6, 389–402.
- Torregrosa N., Dominguez-Fandos D., Camejo M.I., Shirley C.R., Meistrich M.L., Ballesca J.L. *i wsp.*: Protamine 2 precursors, protamine 1/protamine 2 ratio, DNA integrity and other sperm parameters in infertile patients. *Hum Reprod.* 2006, 21, 2084–2089.
- Tremellen K.: Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. *Hum Reprod Update.* 2008, 14, 243–258.
- Twigg J., Fulton N., Gomez E., Irvine D.S., Aitken R.J.: Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod.* 1998a, 13, 1429–1436.
- Twigg J.P., Irvine D.S., Aitken R.J.: Oxidative damage to DNA in human spermatozoa does not preclude pronucleus formation at intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998b, 13, 1864–1871.
- Verma A., Kanwar K.C.: Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian J Androl.* 1999, 1, 151–154.
- Virro M.R., Larson-Cook K.L., Evenson D.P.: Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril.* 2004, 81, 1289–1295.
- Walczak-Jędrzejowska R., Wolski J.K., Słowikowska-Hilczler J.: The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol.* 2013, 66, 60–67.
- Wang X., Sharma R.K., Gupta A., George V., Thomas A.J., Falcone T. *i wsp.*: Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study. *Fertil Steril.* 2003, 80 Suppl 2, 844–850.

Zablocka A., Janusz M.: The two faces of reactive oxygen species. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2008, 62, 118–124.

Zhang Y., Wang H., Wang L., Zhou Z., Sha J., Mao Y. *i wsp.*: The clinical significance of sperm DNA damage detection combined with routine semen testing in assisted reproduction. *Mol Med Rep*. 2008, 1, 617–624.

Zini A.: Are sperm chromatin and DNA defects relevant in the clinic? *Syst Biol Reprod Med*. 2011, 57, 78–85.

Zini A., Al-Hathal N.: Antioxidant therapy in male infertility: fact or fiction? *Asian J Androl*. 2011, 13, 374–381.

Zini A., Jamal W., Cowan L., Al-Hathal N.: Is sperm DNA damage associated with IVF embryo quality? A systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2011, 28, 391–397.

Zini A., San Gabriel M., Baazeem A.: Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *J Assist Reprod Genet*. 2009, 26, 427–432.