

Erkek infertilitesinin medikal tedavisi

Medical treatment of male infertility

Ali Atan, Fazlı Polat, Süleyman Yeşil, Ali Ünsal

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı

Geliş tarihi (Submitted): 08.05.2015
Kabul tarihi (Accepted): 14.02.2016

Yazışma / Correspondence

Prof. Dr. Ali Atan
Birlik Mahallesi 396 Sokak 14/11
Çankaya-Ankara
Tel: 0532 424 2082
E-mail: aliatanpitt@hotmail.com

Özet

Erkek infertilitesinin nedenleri pretestiküler, testiküler ve posttestikülerdir. Medikal tedavi pretestiküler ve testiküler nedenlere bağlı infertilitesi olan erkeklerde uygundur. Ancak infertil erkeklerin bazılarında bir neden bulunabilir iken kalan bir kısmında belirli bir neden saptanamamaktadır. Bu nedenle infertil erkeklerin medikal tedavisinde alta yatan neden biliniyor ise ona yönelik spesifik bir tedavi uygulanır iken bir nedeninin bulunamadığı olgularda ampirik medikal tedaviler verilmektedir.

Anahtar Kelimeler: infertilite, erkek, medikal tedavi, ampirik

Abstract

The reasons of male infertility are pretesticular, testicular and posttesticular. Medical treatment is suitable for the men with infertility due to pretesticular and testicular reasons. However, some of the infertile men may be found a reason while no reason is detected in some of infertile men. Therefore, specific treatment is given to infertile men who is found a specific reason while ampic treatment is given to infertile men who is found no reason.

Keywords: infertility, male, medical treatment, ampic

Bir yıllık korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin meydana gelmemesi durumuna infertilite denir. Tüm çiftlerin yaklaşık %15'inde infertilite vardır. İnfertil çiftlerin %50'sinde kadın faktörü, %50'sinde erkek faktörü sorumludur. Erkek infertilitesinin nedenleri pretestiküler, testiküler ve posttestikülerdir. Pretestiküler neden denildiğinde hipotalamus-hipofiz-gonad aksında bir bozukluk ifade edilmektedir. Bu bozukluk nedeni ile yeterli testiküler uyarı sağlanamadığı için spermatogenez olmamaktadır. Testiküler neden denildiğinde bizzat testisin

kendisinden kaynaklanan sorunlar veya bozukluklar nedeniyle spermatogenezin meydana gelmemesidir. Posttestiküler neden ise üretilen spermelerin dışarı atılmasını engelleyen durumların olmasını ifade etmektedir. Bu nedenler doğumsal veya sonradan meydana gelen durumlardan kaynaklanabilir.

Erkek infertilitesinde olguların ancak %20'sinde bir neden saptanabilir iken kalan %30'luk grupta idiyopatik veya açıklanamayan infertilite durumu vardır. İdiyopatik olan infertilite olgularında semen bozukluğu olmasına

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

karşın bir neden saptanamamaktadır (1). İnfertil erkeklerin bir kısmında ise semen parametreleri normal olması-na karşın fertilitte sağlanamamaktadır. Buna açıklanamayan infertilite denir (2). Bu nedenle infertil erkeklerin medikal tedavisinde altta yatan neden biliniyor ise ona yönelik spesifik bir tedavi uygulanır iken bir nedeninin bulunamadığı olgularda ampirik medikal tedaviler verilmektedir. Bu derlemede pretestiküler ve testiküler nedenlere bağlı erkek infertilitesinin medikal tedavi seçenekleri sunulmaktadır.

1. Spesifik Tedaviler

A. Hipotalamus-hipofiz-gonad aksında eksiklik (Hipogonadotropik-Hipogonadizm):

a. *Pulsatil Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (GnRH) tedavisi:* Erkek fertilitesi için hipotalamus, hipofiz ve gonad arasındaki ilişkinin normal olması gerekir. Hipotalamusta üretilen ve pulsatil şekilde salgılanan GnRH, ön hipofizden luteinizan hormon (LH) ve folikül stimulan hormon (FSH) salınımını uyaran bir dekaeptiddir. LH testiste leydig hücrelerini uyarak testosteron üretimini arttırır iken FSH testiste sertoli hücrelerini uyarak spermatogenezi başlatır. Erkek infertilitesinde medikal tedavide amaç intratestiküler T düzeyini arttırmak ve FSH ile sertoli hücrelerini uyarmaktır (3). Pulsatil GnRH tedavisinde amaç, her 120 dakikada bir GnRH'un 5-20 mikrogram dozda subkutan olarak enjekte edilmesidir. Bu tedavi ile Hipo-Hipo olan kişilerin %40'ında yaklaşık 4. ayda testis volümünün arttığı ve spermatogenezin başladığı belirtilmektedir. Gebelik oranları ise %50-60 civarındadır. Etkinliğin gonadotropin tedavisi ile aynı olduğu saptanmıştır. Sadece etki daha çabuk başlamaktadır. Ancak pulsatil GnRH tedavisi daha pahalıdır, invaziftir, düzenli subkutan iğne değişimi gerekir. Bu nedenlerle ampirik olarak kullanım sınırlıdır (1).

b. *Gonadotropin tedavisi:* GnRH'a cevap olarak ön hipofizden salınan FSH ve LH, Hipo-Hipo tedavisinde çok etkilidir. LH düzeyini arttırmak için insan koryonik gonadotropini (HCG) 1000-2500 IU olarak haftada 2-3 defa subkutan olarak başlanır. Altı ay sonra semende sperm yok ise tedaviye FSH (75 IU HMG veya 100-150 IU rFSH) eklenir. FSH'da haftada 2-3 defa subkutan olarak uygulanır. Spermatogenez için tedavi 1-2 yıl sürebilir. Olguların %90'ında spermatogenez sağlanır. Bu tedavi ile gebelik oranı %38-51 arasında bildirilmektedir. Ampirik

amaçlı kullanım maliyet ve invaziflik nedeniyle sınırlıdır (1).

B. Hiperprolaktinemi: Hipofiz adenomu (prolaktinoma, makro ve mikroadenom), idiyopatik hiperprolaktinemi ve boş sella sendromu prolaktin yüksekliğinin nedenleridir. Dopamin ön hipofizden prolaktin salınımını engeller. Bu nedenle hiperprolaktinemi tedavisinde dopamin agonistleri kullanılır. Yüksek prolaktin varlığında oldukça başarılıdır. Klinik kullanımda iki dopamin agonisti vardır. Bromokriptin (2.5-5 mg haftada 2 defa), kabergolin (0.5-1 mg haftada 2 defa) kullanılır. Kabergolin %83-86, bromokriptin %59 prolaktini normale getirir. Bromokriptine dirençli olguların %70'inde kabergolin başarılıdır (1). Ancak ampirik amaçlı kullanım yoktur.

C. Aksesuar gland enfeksiyonları: 2-3 hafta süreyle antibiyotik tedavisi verilir.

D. Retrograd ejakulasyon: Alfa adrenerjik agonistler kullanılabilir.

E. Anti Sperm Antikor pozitifliği: Yardımcı üreme teknikleri daha uygundur.

E. Tiroid hormon bozukluğu: Tiroid fonksiyon bozuklukları düzeltilmelidir.

2. Spesifik Olmayan Tedaviler (4)

A. Hormonal

a. *Gonadotropin tedavisi:* Subklinik bir endokrinopatiyi düzeltmek için kullanılır. Gonadotropinlerin idiyopatik oligospermide etkinliği tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda ampirik tedavinin açık bir faydasının olmadığı saptanmasına karşın bazı çalışmalarda daha ümit var sonuçlar alınmıştır. Eski bir derleme makalede gonadotropin tedavisi ile sperm parametrelerinde artış yapmasına karşın gebelik oranlarında anlamlı artış olmadığı belirtilmektedir (5). İdiyopatik oligoastenozoospermisi olan olguların dahil edildiği başka bir çalışmada ise rFSH tedavisi ile antioksidana olmayan vitamin verilen hastalar karşılaştırılmıştır. İki grup arasında sperm parametrelerinde ve hormonal değerlerde bir farklılık saptanmamıştır (6). Altı randomize plasebo kontrollü çalışmanın değerlendirildiği Cochrane Veritabanı analizinde tedavi grubunda plaseboya göre daha yüksek gebelik oranı bulunmuştur (7). Yeni bir derleme ise gonadotropin tedavisinin sperm parametrelerinde ve sperm yapısında düzelme, canlı doğum ve gebelik oranlarında artmanın olduğu, yardımcı üreme yöntemleri ile kombine kullanımı için yeterli veri

olmadığı belirtilmektedir (2). Elde edilen olumlu sonuçlara rağmen hala bazı yazarlar ampirik GnRH ve Gonadotropin kullanımının maliyet ve invaziflik nedeni ile sınırlı olduğunu ifade etmektedirler (1). Avrupa Üroloji Derneği kılavuzunda da GnRH ve Gonadotropin'in ampirik kullanımı önerilmemektedir (8).

b. Aromataz inhibitörleri: Androjenlerin östrojene dönüşümünü engellerler. Östrojen gonadotropin üretiminde negatif feed-back sağlar ve spermatogenezi bozar. Östrojen yüksekliği ($T/\bar{O} < 10$) olanlarda uygun bir seçenektir. Bu amaçla anastrozol, letrozol ve testolakton kullanılmaktadır. Bir çalışmada letrozol ve anastrozol arasında semen parametrelerini düzeltme açısından fark olmadığı bulunmuştur (9). Aromataz inhibitörlerinin kullanıldığı eski klinik çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (10-12). İdiyopatik oligozoospermisi olan 25 hastanın dahil olduğu çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çaprazlama çalışmada, hastalara 8 ay plasebo ve sonra 8 ay testolakton verilmiştir. Tedavi sonrası semen kalitesinde ve gebelikte artış gözlenmemiştir. Yazarlar aromataz inhibitörü tedavisinin idiyopatik oligozoospermik hastalarda faydalı olmadığını belirtmişlerdir (10). Başar ve Tuğlu'nun çalışmasında oligospermik olan ve T/\bar{O} oranı 0.14'ün altında saptanan 32 hastaya 8 hafta süreyle anastrozol verilmiştir. Tedavi sonrası semen parametrelerinde anlamlı bir artış olmasına karşın gebelik elde edilememiştir. Yazarlar tedavi süresinin kısalığına ve gebelik açısından hastaların takip edilmediğini belirtmektedirler (13). Oligo-azospermik 27 hastanın incelendiği başka bir çalışmada hastalara 6 aydan uzun süre letrozol 2.5 mg günde 1 defa verildikten sonra semen parametrelerinde ve hormon profilinde düzelmeye ulaşılmamıştır. Yazarlar tedavi süresinin ve motilitesinin normal düzeye ulaşmadığı görülmüştür (14). Cavallini ve arkadaşlarının çalışmasında da $T/\bar{O} < 10$ olan idiyopatik infertiliteli olan 46 hastada 6 aylık letrozol tedavisinin etkisi incelenmiştir. Tedavi sonrası sperm sayısında ve motilitesinde artış olmasına karşın gebelik durumu hakkında bir bilgi verilmemiştir (15).

c. Antiöstrojen tedavisi: Testosterone periferde sitokrom p450 enzimi ile östradiole dönüştürülür. Östradiol hipotalamus ve hipofizde negatif feed-back ile GnRH, Gonadotropin ve sonuçta testosteron salınımını engeller. Antiöstrojenler, östrojen reseptörlerini bloke eden

ilaçlardır. Bu amaçla tamoksifen 10-30 mg/g ve klomifen 25-50 mg/g kullanılmaktadır. Antiöstrojenler, hipotalamus ve hipofizde östrojenin negatif feed-back etkisini azaltarak FSH ve LH artışı sağlar. Bu şekilde testosteron üretimini ve spermatogenezi arttırmaları (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı randomize, çift kör bir çalışmada idiyopatik infertilitesi olan 1308 erkekte 6 ay verilen klomifen 25 mg'ın etkinliği incelenmiştir. Tedavi sonrası semen kalitesinde ve gebelik oranlarında anlamlı bir düzeltme olmamıştır (16). Daha güncel çalışmalarda ise bazı olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Ülkemizden idiyopatik oligozoospermik erkeklerde tamoksifenin etkisinin incelendiği bir çalışmada sperm sayısı ve motilite artışı olmasına karşın değerlerin normal düzeylere ulaşmadığı bulunmuştur (17). Moradi ve arkadaşlarının çalışmasında sperm sayısı 20.3 milyon/ml'den 42.5 milyon/ml'e, motilitesi %23.7'den %43.3'e artarak normal düzeylere yükselmiştir (18). Başka bir çalışmada ise sayı artışı olmasına karşın motilite ve morfolojide artış olmamıştır (19). Yeni bir çalışmada ise sperm sayısı ve morfolojisi düzelmesine karşın, motilite düzelmemiştir (20). Bu çalışmalarda gebelik durumu belirtilmemiştir. Antiöstrojenler yardımcı üreme yöntemleri için testisten sperm elde etmeyi arttırmak için de kullanılmıştır. Azospermik 42 hastaya 5 ay süreyle klomifen verildikten sonra hastaların %64.3'ünde spermogramda 1-16 mil/ml arası (ortalama 3.8 mil/ml) sperm saptanırken %35.7'sinde testisten sperm elde edilebilmiştir (21). Başka bir çalışmada da 3 aylık tamoksifen sonrası ilk biyopsilerinde sperm bulunmayan hastaların bir kısmında ikinci biyopsi ile sperm elde edildiği belirtilmektedir (22). Onbir klinik çalışmanın gözden geçirildiği Cochrane derlemesinde de antiöstrojenlerin plaseboya göre 2.4 kat gebelik şansını arttırdığı gösterilmiştir. Alt grup analizinde klomifen 50 mg'ın 5 kat, tamoksifen 20-30 mg'ın 2.8 kat gebelik şansını arttırdığı ancak klomifen 25 mg'ın gebelik şansını arttırmadığı bulunmuştur (23). Amerikan Üroloji Derneğinin bir tarama çalışmasında idiyopatik infertilite için en sık kullanılan ilaçların klomifen sitrat ve anastrozol olduğu saptanmıştır (24). Ancak günümüzde halen aromataz inhibitörlerinin ve antiöstrojenlerin normogonadal idiyopatik erkek infertilitesinde kullanımı tartışmalıdır ve kullanım prospektüs dışıdır (3).

B. Non-hormonal (antioksidanlar)

Reaktif oksijen türleri (ROS), aerobik reaksiyonların

bir üründür. ROS; spermilerin kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu, sperm motilitesi ve fertilizasyon için gereklidir. Seminal plazmanın antioksidan aktivitesi semende bulunan enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalar ile sağlanır. Semendeki enzimatik antioksidan mekanizmalar superoksid dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazdır. Enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar ise glutatyon, pantotenik asid, koenzim Q10, karnitin, bazı vitaminler (A, E, C, B) ve bazı minerallerdir (çinko, selenyum, bakır) (25). Fertil erkeklerde ROS üretimi ile antioksidan mekanizmalar denge halindedir. İnfertil erkeklerde seminal antioksidan kapasite azalır. Açıklanamayan infertilite olgularının %11-78.5 ROS düzeyleri artmıştır (26-28). Enfeksiyon, otoimmün hastalıklar, kronik hastalıklar, ileri yaş, aşırı alkol tüketimi, sigara, stres ve obezite vücutta oksidatif stresi arttıran faktörlerdir (29). Artmış oksidatif stres sonrası ROS türlerinde de artış olur (30). Buna bağlı hücre yapısı ve fonksiyonlarında bozulma meydana gelir (31). Spermatozoaların membranı poliansatüre yağ asitlerinden zengindir ve bu nedenle oksidatif strese çok duyarlıdır (32). Oksidatif stres sonrası oluşan plazma membran hasarı ile membran bütünlüğü bozulur, sperm DNA hasarı olur ve motilite bozulur. Bunlara bağlı sperm ve oosit füzyon yetersizliği ve sonuçta infertilite meydana gelir (33-35).

İnfertil erkeklerde antioksidan tedavi ile semen parametrelerinde düzelme, gebelik oranlarında artma ve sperm DNA fragmentasyon indeksinde düzelme saptanmıştır (36). Toplam 1665 hastanın dahil olduğu randomize, plasebo kontrollü 17 çalışmanın meta analizinde antioksidanlar ile plasebo veya tedavisiz grup karşılaştırıldı. Sonuç değerlendirmesi semen parametreleri ve gebelik oluşması ile yapıldı. Ondört çalışmada (%82) semen kalitesi ve gebelik arttı. Semen parametreleri açısından %63 motilite ve %33 sayı artışı ve %17 morfoloji düzelmesi saptandı. On çalışmanın 6'sında ise gebelik oranları arttı (25). Oral antioksidanların etkisini inceleyen 20 çalışma değerlendirildi. Hastaların %95'inde oksidatif stres azalması veya DNA hasarında azalma saptandı. En fazla düzelen semen parametresi motilite idi (10/16). En az sayı düzelmesi (%15) saptandı (36). Oral antioksidanların erkek infertilitesindeki etkisinin incelendiği Cochrane veri tabanı analizinde, gebelik oranında ve canlı doğum oranında artış olduğu belirtilmektedir. Ancak değerlendirilen

çalışmaların kanıt düzeyinin düşük olduğu ve bu sonuçların desteklenmesi için daha iyi planlanmış, randomize kontrollü çalışmalara gerek olduğu ifade edilmektedir (37). Ancak günümüz verileri ile antioksidanların ne dozda, hangi kombinasyonda, ne süre verilecek belli değildir. Çalışmalar arası metodolojik farklılıklar vardır. Çalışmalara dahil edilen hasta sayıları azdır. Randomize, plasebo kontrollü çalışma sayısı yeterli değildir.

Sonuç olarak nedeni saptanan infertil olguların tedavisinde nedenin düzeltilmesi gereklidir. Nedeni saptanmayan infertil olguların tedavisi halen tartışmalıdır. Bu grup hastaların tedavisinde oral antioksidanlar ile ilgili bilgilerin eksikliğine rağmen önemli bir seçenek olarak dikkate alınmalıdır.

Kaynaklar

1. Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained male infertility: diagnosis and management. *Int Braz J Urol* 2012; 38: 576-594.
2. Jung JH, Seo JT. Empirical medical therapy in idiopathic male infertility: Promise or panacea? *Clin Exp Reprod Med* 2014; 41: 108-114.
3. Dabaja AA, Schlegel PN. Medical treatment of male infertility. *Trans Androl Urol* 2014; 3: 9-16.
4. Garg H, Kumar R. Empirical Drug Therapy for Idiopathic Male Infertility: What is the New Evidence? *Urology* 2015; 86: 1065-1075.
5. Kumar R, Gautam G, Gupta NP. Drug therapy for idiopathic male infertility: rationale versus evidence. *J Urol* 2006; 176:1307-1312.
6. Colacurci N, Monti MG, Fornaro F, et al. Recombinant human FSH reduces sperm DNA fragmentation in men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *J Androl* 2012; 33: 588-593.
7. Attia AM, Abou-Setta AM, Al-Inany HG. Gonadotrophins for idiopathic male factor subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 8:CD005071.
8. Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Kopa Z, Krausz C, Tournaye H. The EAU Male Infertility Guidelines 2015.
9. Gregoriou O, Bakas P, Grigoriadis C, Creatsa M, Hassiakos D, Creatsas G. Changes in hormonal profile and seminal parameters with use of aromatase inhibitors in management of infertile men with low testosterone to estradiol ratios. *Fertil Steril* 2012; 98: 48-51.
10. Clark RV, Sherins RJ. Treatment of men with idiopathic oligozoospermic infertility using the aromatase inhibitor, testolactone. Results of a double-blinded, randomized, pla-

- cebo-controlled trial with crossover. *J Androl* 1989; 10: 2: 240-247.
11. Pavlovich CP, King P, Goldstein M, Schlegel PN. Evidence of a treatable endocrinopathy in infertile men. *J Urol* 2001;165: 837-41.
 12. Raman JD, Schlegel PN. Aromatase inhibitors for male infertility. *J Urol* 2002;167: 624-629.
 13. Başar MM, Tuğlu D. Aromatase inhibitors in infertile patients: effects on seminal parameters, serum and seminal plasma testosterone levels, and estradiol levels during short-term follow-up. *Turk J Med Sci* 2009; 39: 519-524.
 14. Saylam B, Efesoy O, Cayan S. The effect of aromatase inhibitor letrozole on body mass index, serum hormones, and sperm parameters in infertile men. *Fertil Steril* 2011; 95: 809-811.
 15. Cavallini G, Biagiotti G, Bolzon E. Multivariate analysis to predict letrozole efficacy in improving sperm count of non-obstructive azoospermic and cryptozoospermic patients: a pilot study. *Asian J Androl* 2011; 15: 806-811.
 16. World Health Organization. A double-blind trial of clomiphene citrate for the treatment of idiopathic male infertility. *Int J Androl* 1992;15: 299-307.
 17. Cakan M, Aldemir M, Topcuoglu M, et al. Role of testosterone/estradiol ratio in predicting the efficacy of tamoxifen citrate treatment in idiopathic oligoasthenoteratozoospermic men. *Urol Int* 2009; 83: 446-45.1
 18. Moradi M, Moradi A, Alemi M, et al. Safety and efficacy of clomiphene citrate and L-carnitine in idiopathic male infertility: a comparative study. *Urol J* 2010; 7: 188-193.
 19. Tang KF, Xing Y, Wu CY, et al. Tamoxifen combined with coenzyme Q10 for idiopathic oligoasthenospermia. *Zhonghua Nan KeXue* 2011; 17: 615-618.
 20. Nada EA, El Taieb MA, Ibrahim HM, Al Saied AE. Efficacy of tamoxifen and L-carnitine on sperm ultrastructure and seminal oxidative stress in patients with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Andrologia* 2014.
 21. Hussein A, Ozgok Y, Ross L, et al. Clomiphene administration for cases of non obstructive azoospermia: a multicenter study. *J Androl* 2005; 26: 787-791.
 22. Moein MR, Tabibnejad N, Ghasemzadeh J. Beneficial effect of tamoxifen on sperm recovery in infertile men with non obstructive azoospermia. *Andrologia* 2012; 44: 194-198.
 23. Chua ME, Escusa KG, Luna S, et al. Revisiting oestrogen antagonists (clomiphene or tamoxifen) as medical empiric therapy for idiopathic male infertility: a meta-analysis. *Andrology* 2013; 1: 749-757.
 24. Ko EY, Siddiqi K, Brannigan RE, Sabanegh ES Jr. Empirical medical therapy for idiopathic male infertility: a survey of the American Urological Association. *J Urol* 2012;187:973-8.
 25. Ross C, Morriss A, Khairy M, et al. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Ross et al. Reproductive BioMedicine Online* 2010; 20, 711– 723.
 26. Shekarriz M, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Incidence and level of seminal reactive oxygen species in normal men. *Urology* 1995; 45: 103-7.
 27. Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 331-45.
 28. Venkatesh S, Shamsi MB, Deka D, Saxena V, Kumar R, Dada R. Clinical implications of oxidative stress & sperm DNA damage in normozoospermic infertile men. *Indian J Med Res* 2011; 134: 396-8.
 29. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health* 2014; 32: 1-17.
 30. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
 31. Griveau JF, Lannou D. Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int J Urol* 1997; 20: 61-69.
 32. 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.
 33. Aitken RJ, Harkiss D, Buckingham DW. Analysis of lipid peroxidation mechanisms in human spermatozoa. *Mol Reprod dev* 1993; 35: 302-315.
 34. Agarwal A, Allamaneni SS, Said TM. Chemiluminescence technique for measuring reactive oxygen species. *Reprod Biomed Online* 2004; 9: 466-468.
 35. Cocuzza M, Agarwal A. Nonsurgical treatment of male infertility: specific and empiric therapy. *Biologics* 2007; 1: 259-69.
 36. Gharagozloo P, Aitken RJ. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum Reprod* 2011; 26: 1628–1240.
 37. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;12:CD007411.