
ANTIOXIDANTES DIETÉTICOS COMO UNA ESTRATEGIA DE MICRONUTRICIÓN TERAPÉUTICA DE LA INFERTILIDAD MASCULINA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Trabajo Final de Máster
Máster Universitario de Nutrición y Salud

Autor: Francisco Caldera Silva
Tutora: Marina Diana Pérez

Curso académico 2020/2021



 Reservados todos los derechos. Está prohibida la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la impresión, la reprografía, el microfilm, el tratamiento informático o cualquier otro sistema, así como la distribución de ejemplares mediante alquiler y préstamo, sin la autorización escrita del autor o de los límites que autorice la Ley de Propiedad Intelectual.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| ABREVIATURAS | 4 |
| TABLAS Y FIGURAS | 5 |
| RESUMEN Y PALABRAS CLAVE | 6 |
| ABSTRACT AND KEYWORDS | 7 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 8 |
| 1.1. CONCEPTOS BÁSICOS RELACIONADOS CON LA INFERTILIDAD MASCULINA (IFM) | 8 |
| 1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA IFM | 9 |
| 1.3. ETIOLOGÍA DE LA IFM | 10 |
| 1.3.1. Factores de riesgo de la IM | 11 |
| 1.4. FISIOLOGÍA BÁSICA DE LA ESPERMATOGÉNESIS Y EL ESTRÉS OXIDATIVO SEMINAL | 12 |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 12 |
| 3. OBJETIVOS | 13 |
| 3.1. OBJETIVO GENERAL | 13 |
| 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 13 |
| 3.3. PREGUNTAS INVESTIGABLES | 13 |
| 4. METODOLOGÍA | 13 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 16 |
| 5.1. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON VITAMINAS, MINERALES Y/O MICRONUTRIENTES EN LA CALIDAD DEL SEMEN | 16 |
| 5.2. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y ÁCIDO ALFA-LIPOÍCO EN LA CALIDAD DEL SEMEN | 21 |
| 5.3. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON COENZIMA Q10 (UBIQUINONA) Y CARNITINAS EN LA CALIDAD DEL SEMEN | 23 |
| 5.4. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON LICOPENO Y N-ACETIL-CISTEÍNA EN LA CALIDAD DEL SEMEN | 26 |
| 6. APLICABILIDAD Y NUEVAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN | 28 |
| 7. CONCLUSIÓN | 29 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 30 |

ABREVIATURAS

IF: infertilidad

IFM: infertilidad masculina

PACASE: parámetros de análisis de la calidad del semen

AOXID: antioxidantes dietéticos

BEOS: biomarcadores de estrés oxidativo seminal

ECAs: ensayos controlados aleatorizados

HI: hombres infértiles

HF: hombres fértiles

EPZ: espermatozoides

CATPS: capacidad antioxidante total del plasma seminal

ROS: especies reactivas de oxígeno

IFADNE: índice de fragmentación del AND espermático

EO: estrés oxidativo

I: intervención

C: control

MDA: malondialdehído

DHA: ácido docosahexaenoico

EPA: ácido eicosapentaenoico

CAT: catalasa

SOD: superóxido dismutasa

GPX: glutatión peroxidasa

NAC: N-acetil-cisteína

LC: L-carnitina

LAC: L-acetil-carnitina

CoQ10: coenzima Q10

GI: grupo intervención

GC: grupo control

TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Valores de referencia del seminograma convencional | 8 |
| Tabla 2. Términos médicos utilizados para expresar anomalías en los PACASE | 9 |
| Tabla 3. Contaminantes ambientales y factores modificables del estilo de vida relacionados con la IFM | 11 |
| Tabla 4. Proceso de extracción de datos de la literatura científica | 14 |
| Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión para la búsqueda de la literatura científica | 15 |
| Tabla 6. Efectos de la suplementación oral con vitaminas, minerales y/o otros micronutrientes en la calidad del semen | 18 |
| Tabla 7. Efectos de la suplementación oral con ácidos grasos omega-3 y ácido alfa-lipoico en la calidad del semen | 22 |
| Tabla 8. Efectos de la suplementación oral con coenzima Q10 (ubiquinona) y carnitinas en la calidad del semen | 24 |
| Tabla 9. Efectos de la suplementación oral con licopeno y N-acetil-cisteína en la calidad del semen | 27 |

FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mapa mundial de las tasas de IF por factor masculino | 10 |
|---|----|

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

ANTIOXIDANTES DIETÉTICOS COMO UNA ESTRATEGIA DE MICRONUTRICIÓN TERAPÉUTICA DE LA INFERTILIDAD MASCULINA

Autor: Francisco Caldera Silva

Tutora: Marina Diana Pérez

Curso académico: 2020/2021

Antecedentes: Alrededor del 40-50% de los casos de infertilidad (IF) en todo el mundo son debidos a factores masculinos. La infertilidad masculina (IFM) sigue siendo una cuestión compleja de abordar, ya que diferentes enfermedades y factores de riesgo parecen estar involucrados. Sin embargo, el *estrés oxidativo* ha sido señalado como uno de los principales condicionantes relacionado con anomalías en los parámetros de análisis de la calidad del semen (PACASE). Como consecuencia, cada vez son más los estudios que parecen apostar por los antioxidantes dietéticos (AOXID) como una estrategia de micronutrición terapéutica de la IFM.

Objetivos: Analizar los efectos de los AOXID en los PACASE y ciertos biomarcadores de estrés oxidativo seminal (BEOS), así como la dosis, la frecuencia de las tomas y el tiempo de administración de los mismos en las intervenciones clínicas con hombres (in)fértil.

Metodología: Un total de 2446 artículos abordaron antioxidantes y (in)fertilidad masculina a partir de la combinación de palabras clave en la base de datos PubMed. No obstante, solamente 31 ensayos controlados aleatorizados (ECAs) fueron seleccionados.

Resultados: Hallazgos heterogéneos fueron observados tras la suplementación oral con vitaminas C y E, ácido fólico, selenio, zinc, ácidos grasos omega-3, ácido alfa-lipoico, coenzima Q10, carnitinas, licopeno y/o N-acetil-cisteína.

Conclusión: Se puede afirmar, en cierta medida, que los antioxidantes analizados muestran efectos positivos en la calidad del semen, pero se necesitan más estudios experimentales que permitan formular criterios estandarizados para una indicación más eficiente y segura de los mismos.

Palabras clave: fertilidad/infertilidad masculina, calidad seminal/espermática, antioxidantes dietéticos, estrés oxidativo.

SUMMARY AND KEYWORDS

DIETARY ANTIOXIDANTS AS A THERAPEUTIC MICRONUTRITION STRATEGY IN MALE INFERTILITY

Author: Francisco Caldera Silva

Tutor: Marina Diana Pérez

Academic year: 2020/2021

Background: *About 40-50% of infertility (IF) cases worldwide are due to male factors. Male infertility (IFM) remains being a complicated issue to resolve. In effect, different diseases and risk factors seem to be involved. However, the oxidative stress has been identified as one of the main conditioning factors related to abnormalities in the semen quality analysis parameters (PACASE). Because of this, a growing number of studies seem to support dietary antioxidants (AOXID) as a therapeutic micronutrition strategy for IFM.*

Aims: *Analysing the effects of AOXID on the PACASE and certain biomarkers of seminal oxidative stress (BEOS), as well as the dose, the frequency of intake and the time of administration of AOXID in clinical interventions with (in)fertile men.*

Methodology: *After combining keywords in the PubMed database a total of 2446 articles addressed antioxidants and male (in)fertility. However, only 31 randomised controlled trials (RCTs) were selected.*

Results: *Heterogeneous findings were observed after the oral supplementation with vitamins C and E, folic acid, selenium, zinc, omega-3 fatty acids, alpha-lipoic acid, coenzyme Q10, carnitines, lycopene and/or N-acetyl-cysteine.*

Conclusion: *It can be affirmed, up to a point, that the antioxidants analysed show positive effects on semen quality, but more experimental studies are needed to formulate standardised criteria for a more efficient and safer indication of these substances.*

Keywords: *male fertility/infertility, semen/sperm quality, dietary antioxidants, oxidative stress.*

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CONCEPTOS RELACIONADOS CON LA INFERTILIDAD MASCULINA (IFM)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la infertilidad (IF) como una enfermedad del aparato reproductor que se caracteriza por la no consecución o compleción de un embarazo clínico tras un periodo de 12 meses manteniendo relaciones sexuales sin medidas anticonceptivas¹.

Según la 5ª edición del “*Manual de Laboratorio para el Examen y Procesamiento del Semen Humano*” de la OMS², la IF de la pareja por factor masculino tiene lugar cuando existe una alteración clínica en los parámetros de análisis de la calidad del semen (PACASE), demostrada a través de un seminograma convencional.

A continuación, se exponen los valores de referencia del seminograma convencional y los términos médicos que se utilizan para expresar anomalías en los PACASE, tal como la Tabla 1 y la Tabla 2 muestran respectivamente.

Tabla 1. Valores de referencia del seminograma convencional.

| Parámetro seminal | Valor inferior de referencia |
|---|--|
| Volumen de eyaculado | 2 ml |
| pH del plasma seminal | 7,2 |
| Concentración | 20 millones de EPZ por ml de semen |
| Recuento total | 40 millones de EPZ por eyaculado |
| Movilidad | 25% tipo a o 50% tipo a + b de los EPZ del eyaculado |
| Vitalidad | 75% vivos de los EPZ del eyaculado |
| Morfología | 15% de formas normales |
| EPZ: Espermatozoides; EPZ tipo a: Móviles progresivos rápidos; EPZ tipo b: Móviles progresivos lentos | |

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos recogidos en la bibliografía².

Tabla 2. Términos médicos utilizados para expresar anomalías en los PACASE.

| Terminología médica | Significado |
|------------------------|--|
| Aspermia | Ausencia de eyaculado |
| Azoospermia | Ausencia de EPZ en el semen eyaculado en el análisis inicial y tras el centrifugado |
| Criptoospermia | Ausencia de EPZ en el semen eyaculado en el análisis inicial y presencia de EPZ tras el centrifugado |
| Oligozoospermia | Concentración <20 millones/ml de semen |
| Astenoospermia | Móviles progresivos <25% tipo a o <50% tipo a + b |
| Teratoospermia | Morfología <15% formas normales |
| Necroospermia | Vitalidad <75% |

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos recogidos en la bibliografía².

Además, es de interés resaltar que lejos de ser un indicador perfecto de potencial reproductivo, el análisis convencional del semen se considera la piedra angular de la evaluación de la capacidad reproductiva del hombre³. No obstante, en vista a un diagnóstico más pertinente, se puede tener en cuenta la medición de los niveles séricos de las hormonas sexuales y de los biomarcadores de estrés oxidativo seminal (BEOS), tales como la capacidad antioxidante total del plasma seminal (CATPS), la actividad de enzimas antioxidantes, la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS) o el índice de fragmentación del ADN espermático (IFADNE), entre otros parámetros⁴.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA IFM

En las últimas décadas, se ha observado un aumento significativo en la prevalencia de IF en todo el mundo. Se estima que sobre el 7-15% de las parejas en edad fértil, es decir, aproximadamente entre 50 y 80 millones de parejas; presentan problemas para concebir y de este porcentaje, el 40-50% de los casos son debidos a factores masculinos^{5,6,7}. Asimismo, se informa que alrededor del 35% de los casos de IF involucran sólo a mujeres, el 20% tanto a mujeres como a hombres, el 30% sólo a hombres y el 15% restante permanece sin explicación (*IF inexplicable, ± 15%*)^{8,9,10}. La Figura 1 representa el mapa mundial de las tasas de IF por factor masculino.

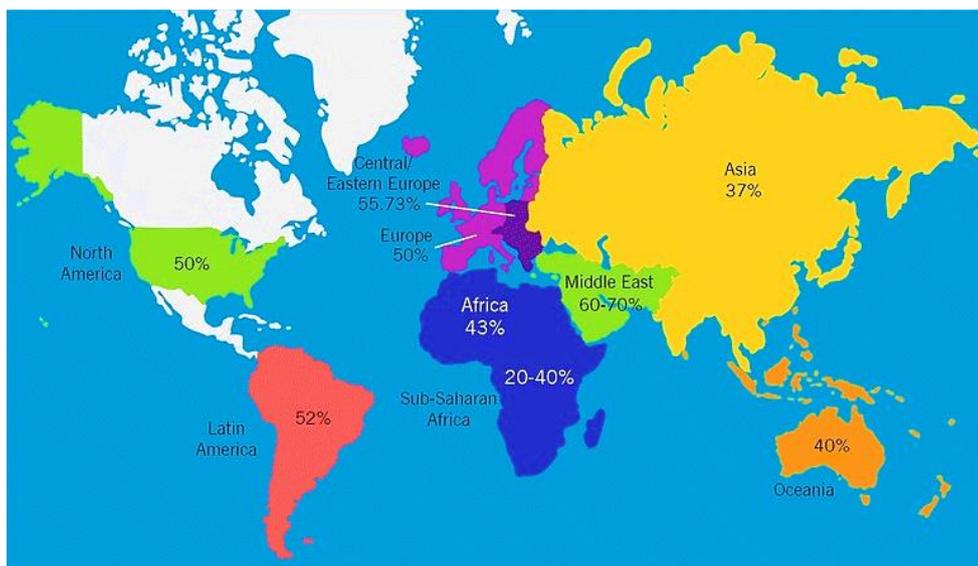


Figura 1. Mapa mundial de las tasas de IF por factor masculino. Fuente: Agarwal et al., 2015⁵.

En España, se estima una prevalencia de IF del 15% al 17%. De este porcentaje, el 40% de los casos corresponden a hombres, otro 40% a mujeres y el 20% restante a causas mixtas o idiopáticas (*IF desconocida*”, 30-50%)^{11,12}.

Por otra parte, ciertos informes recientes afirman que la calidad del semen ha disminuido a escala global en los últimos 40 años^{13,14,15}. En esta línea, un metaanálisis de gran escala realizado por Levine et al.¹⁵, que incluye 185 estudios y más de 42.000 hombres sin problemas de fertilidad conocidos, informa de un empeoramiento en la calidad del semen entre 1973 y 2011. En particular, se registra una disminución de hasta el 50-60% del recuento total y la concentración de espermatozoides (EPZ), lo que genera serias preocupaciones de cara al futuro de la reproducción humana.

Por último, diferencias en la prevalencia de IFM entre los países desarrollados y los países en vías de desarrollo han sido registradas, siendo estos últimos los que presentan las tasas de IFM más elevadas, hecho que se ha asociado a ingresos familiares bajos y una escasa accesibilidad a los servicios de asistencia sanitaria^{16,17}.

1.3. ETIOLOGÍA DE LA IFM

Entre los problemas más comunes de IFM se encuentran aquellos que afectan al funcionamiento de los testículos y, concretamente, un 90% están relacionados con anomalías en los PACASE. Otras causas importantes involucran desde trastornos hormonales (hipogonadismos primarios o secundarios), anatómicos (trastornos obstructivos), genéticos (estrés oxidativo) y vasculares (varicocele) hasta procesos infecciosos y factores inmunológicos (anticuerpos anti-espermatozoides), entre otras^{8,18}.

Teniendo en cuenta ciertas investigaciones recientes, cabe señalar que el estrés oxidativo (EO) se ha establecido como un mediador significativo en muchas de las causas mencionados anteriormente, incluso el 30-80% de los casos de IFM idiopática han sido consagrados como una afección por EO^{12,19}. Otras fuentes^{20,21}, llegan a considerarlo como una de las principales causas intrínsecas de IFM, junto con la disminución de la CATPS y la actividad disfuncional de las mitocondrias de los EPZ.

En calidad de estas discusiones, una creciente tendencia de estudios científicos aboga por la suplementación oral con antioxidantes dietéticos (AOXID), ya sea aislada o en combinación con otros micronutrientes, para reducir las ROS y detener las reacciones en cadena que eventualmente conducen al EO^{19,22,23}. Sin embargo, se advierte que una ingesta excesiva de estos compuestos puede conducir a un indeseable efecto paradójico, conocido como *estrés reductor* y que es tan perjudicial para las células como el EO²⁴.

1.3.1. Factores de riesgo de la IFM

De acuerdo a la literatura publicada, los factores de riesgo más señalados en relación a la IFM se reflejan en la Tabla 3.

Tabla 3. Contaminantes ambientales y factores modificables del estilo de vida relacionados con la IFM.

| Contaminantes ambientales | Factores modificables del estilo de vida |
|---|---|
| Temperaturas elevadas | Sedentarismo o ejercicio físico vigoroso |
| Radiaciones ionizantes | Estrés |
| Disruptores endocrinos y otros productos químicos (pesticidas organoclorados, policlorobifenilos, etc.) | Ropa ajustada |
| Toxinas alimentarias | Consumo de tabaco, alcohol y drogas ilegales (marihuana, cocaína, heroína, etc.) |
| Fármacos (anabolizantes esteroideos, etc.) | Dietas desequilibradas en energía y nutrientes (dietas hipercalóricas, ingesta excesiva de grasas saturadas y trans, deficiencias de minerales y vitaminas, etc.) |

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos recogidos en la bibliografía^{3,8,14,25}.

1.4. FISIOLÓGÍA BÁSICA DE LA ESPERMATOGÉNESIS Y EL ESTRÉS OXIDATIVO SEMINAL²⁶⁻³¹

La espermatogénesis es un proceso complejo de proliferación y diferenciación celular que ocurre durante el desarrollo de las células germinales masculinas y requiere la participación de varios tipos de células, hormonas, factores paracrinos, genes y reguladores epigenéticos. Por ello, centrarse en algunos puntos clave puede facilitar la discusión de cómo el “*daño oxidativo fisiológico*” del plasma seminal afecta a la espermatogénesis.

En primer lugar, los EPZ pierden la mayor parte de su citoplasma antes de abandonar el testículo, y la condensación de la cromatina se produce después de que éstos progresan desde la capa del epidídimo en tránsito hacia la cola. Estos procesos incluyen reacciones de oxidación repetidas.

En segundo lugar, los sistemas de lanzadera para eliminar y transferir equivalentes reductores a las mitocondrias no funcionan durante estas reacciones, lo cual deja a los EPZ sin mecanismos de defensa intracelulares contra el daño oxidativo.

En tercer lugar, la propia composición lipídica de la membrana plasmática de los EPZ favorece la acumulación de productos altamente reactivos, como el malondialdehído (MDA) y los isoprostanoídes, resultantes de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, sobre todo, de ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA).

Como consecuencia, solo los antioxidantes enzimáticos, tales como catalasa (CAT), peróxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), etc., y no enzimáticos (objeto de estudio de este trabajo) en el plasma seminal brindan protección a los EPZ.

2. JUSTIFICACIÓN

La salud reproductiva del hombre constituye un tema que, frecuentemente, queda relegado a un segundo plano, ya que, incluso en las discusiones científicas, cuestiones como la anticoncepción y la IF suelen percibirse como relacionadas con la mujer⁸. Sin embargo, cada vez son más los datos epidemiológicos que muestran un deterioro creciente de la capacidad reproductiva del hombre en todo el mundo relacionado con una gran variedad de enfermedades y factores de riesgo, entre los que destaca el EO. En respuesta a ello, parece ser que son muchos los autores quienes apuestan por el uso de los AOXID como una estrategia de micronutrición terapéutica de la IFM³².

Por ese motivo, a través del presente trabajo, se pretende aportar al marco de la evidencia científica una revisión detallada y actualizada de los efectos de los AOXID en la calidad del semen, a la vez que discutir las fortalezas y limitaciones de la literatura hasta ahora publicada.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Conocer el papel que desempeñan los AOXID como una estrategia de micronutrición terapéutica de la IFM.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1. Analizar los efectos de la suplementación oral con AOXID en los PACASE y ciertos BEOS de hombres (in)fértil.
- 3.2.2. Examinar la dosis, la frecuencia de las tomas y el tiempo de administración de los AOXID en las intervenciones clínicas con hombres (in)fértil.

3.3. PREGUNTAS INVESTIGABLES

- 3.3.1. ¿La suplementación oral con AOXID, ya sea individual o combinada con otros micronutrientes, mejora los PACASE y ciertos BEOS en hombres (in)fértil?
- 3.3.2. ¿Se han estandarizado criterios en cuanto a la dosis mínima eficaz y/o máxima tolerable, la frecuencia de las tomas y el tiempo de administración de los AOXID en las intervenciones clínicas con hombres (in)fértil?

4. METODOLOGÍA

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica realizada a partir de la base de datos PubMed desde los meses de febrero a mayo del 2021.

En primer lugar, se identificaron las palabras clave relacionadas con el campo de estudio y se combinaron mediante el uso de operadores booleanos, de la siguiente manera: "*male fertility*" OR "*male infertility*" OR "*semen quality*" OR "*sperm quality*" OR "*semen analysis*" OR "*semen parameters*") AND ("*dietary antioxidants*" OR "*natural antioxidants*" OR "*antioxidants supplements*" OR "*oxidative stress*" OR "*reactive oxygen species*" OR "*free radicals*". Un total bruto de 2446 artículos fue resultante inicialmente.

En vista a la multitud de artículos indexados, se empleó un sencillo proceso de síntesis de datos consistente en la aplicación consecutiva de filtros de búsqueda. Primero, se seleccionó el inglés, como idioma científico, y *free full texts*, resultando en 762 artículos. Posteriormente, fueron estratificados por diseño y tipo de estudio, según los criterios de inclusión/exclusión, en: 159 revisiones narrativas, 19 revisiones sistemáticas, 5 meta-análisis y 13 ECAs. De estos 196 artículos, 59 fueron nuevamente filtrados tras acotar la búsqueda a publicaciones en los últimos 5 años (salvo en ECAs) y, una vez chequeado el título y los *abstracts*, solamente 8 cumplieron los requisitos a priori.

En segundo lugar, una búsqueda más selectiva fue llevada a cabo a partir de la lectura de los estudios analizados internamente en las revisiones seleccionadas con anterioridad y sus referencias bibliográficas vinculadas.

Por último, tras la eliminación de los artículos duplicados y la aplicación estricta de los criterios de inclusión/selección, únicamente 31 ECAs fueron seleccionados para su análisis, discusión e interpretación en este trabajo.

Las Tablas 4 y 5 muestran la estrategia metodológica desarrollada para la búsqueda de la literatura científica y los criterios de inclusión/exclusión formulados, respectivamente.

Tabla 4. Proceso de extracción de datos de la literatura científica.

| | | |
|----------------------------|---|---|
| Búsqueda primaria | <ul style="list-style-type: none"> Palabras clave + operadores booleanos | 2446 arts. |
| | <ul style="list-style-type: none"> Cribado 1: free full texts + idioma inglés | 762 arts. |
| | <ul style="list-style-type: none"> Cribado 2: diseño y tipo de estudio | <ul style="list-style-type: none"> - 159 revisiones narrativas - 19 revisiones sistemáticas - 5 meta-análisis - 13 ECAs Total: 196 arts. |
| | <ul style="list-style-type: none"> Cribado 3: fecha de publicación \leq 5 años | <ul style="list-style-type: none"> - 31 revisiones narrativas - 13 revisiones sistemáticas - 2 meta-análisis - 13 ECAs Total: 59 arts. |
| | <ul style="list-style-type: none"> Cribado 4: lectura título + abstract | <ul style="list-style-type: none"> - 1 revisión narrativa - 2 revisiones sistemáticas - 1 meta-análisis - 4 ECAs Total: 8 arts. |
| Búsqueda secundaria | <ul style="list-style-type: none"> Cribado 5: selección manual a partir de las referencias bibliográficas de los estudios del cribado 4 | <ul style="list-style-type: none"> - Revisión narrativa: 60 arts. - Revisiones sistemáticas: 42 arts. - Meta-análisis: 15 arts. - 4 ECAs Total: 121 arts. |
| | <ul style="list-style-type: none"> Cribado 6: eliminación de duplicados + criterios de inclusión/exclusión | 31 ECAs totales |

Fuente: Autoría propia.

Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión para la búsqueda de la literatura científica.

| Criterios de inclusión | Criterios de exclusión |
|--|--|
| Base de datos PubMed | Otras bases de datos científicas |
| Idioma inglés | Otros idiomas |
| Free full texts | Acceso mediante pago |
| Revisiones narrativas publicadas en el último año | Estudios observacionales y ensayos clínicos no aleatorizados |
| Revisiones sistemáticas y meta-análisis publicados en los últimos 5 años | Estudios basados en sexo femenino o parejas |
| ECAs sin fecha límite de publicación | Estudios que analizan semen de otras especies animales |
| Estudios basados en sexo masculino | Estudios en hombres con factores de riesgo cardiovascular, enfermedades crónicas, cáncer y varicocele u otras patologías que causen o estén relacionadas con la IFM; así como en tratamiento activo con quimioterapia o radioterapia y con varicocelectomía reciente |
| Estudios que analizan semen humano | Estudios con antioxidantes cuyas presentaciones requieran ser administradas por otra vía |
| Estudios en hombres sanos, ya sean fértiles o infértiles | Estudios que alegan intervenciones farmacológicas |
| Estudios con antioxidantes orales | Estudios con muestras ≤ 15 sujetos |
| Estudios con AOXID | Estudios que miden hormonas sexuales séricas, concentraciones séricas de micronutrientes y medidas de resultado basadas en la pareja |
| Estudios que miden los PACASE y BEOS | |

Fuente: Autoría propia.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los objetivos formulados y la metodología desarrollada en la presente revisión bibliográfica, se procede a interpretar y discutir los hallazgos de la más alta evidencia científica (ECAs) en el campo de la investigación clínica de los AOXID como una estrategia de micronutrición terapéutica de la IFM.

En primer lugar, se pretende contrastar los efectos de los AOXID con mayor repercusión clínica en los PACASE y los BEOS.

5.1. EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON VITAMINAS, MINERALES Y/O OTROS MICRONUTRIENTES EN LA CALIDAD DEL SEMEN

Un total de 14 ECAs evaluaron los efectos de la suplementación oral con mono o poliformulaciones antioxidantes de vitaminas, minerales y/o otros micronutrientes tanto en hombres infértiles (HI) como en hombres fértiles (HF), los cuales observaron resultados dispares en relación a los PACE y los BEOS. En la Tabla 6 se describen los resultados que informaron los investigadores con la administración de las vitaminas A, C y E, ácido fólico, selenio, zinc, licopeno, coenzima Q10 y N-acetil-cisteína en comparación con el placebo.

Como primeras investigaciones clínicas, los trabajos realizados por Kessopoulou et al.⁴¹ y Hawkes et al.³⁵ en HF, así como por Rolf et al.³⁸ y Greco et al.³⁷ HI, no mostraron diferencias significativas en los PACASE entre los grupos intervención (GI) y los grupos control (GC), tras la suplementación oral con vitamina E, selenio y vitaminas C + E, respectivamente. Del mismo modo, los ensayos de Moreira et al.⁴³ y Raigani et al.⁴², con suplementos de ácido fólico y/o zinc en HI, no mostraron efectos significativos en ninguno de los PACASE tanto en los GI como en los GC. En esta misma línea, “*Males, Antioxidants and Infertility (MOXI)*”, un estudio piloto en EEUU³³, desestima la administración de una poliformulación compuesta de vitaminas C y E, ácido fólico, selenio, L-carnitina y licopeno en HI, tras observar un sorprendente aumento del recuento total y la concentración de EPZ en el grupo que recibió solo placebo.

En contraposición a estos resultados, tanto Alahmar et al.³⁴ como Suleiman et al.⁴⁰ y Omu et al.⁴⁶ informaron aumentos significativos de la movilidad de los EPZ en los HI que fueron suplementados con selenio, vitamina E y zinc, respectivamente. Además, Omu et al.⁴⁶ advirtieron mejoras notables en el recuento total de EPZ.

Sin embargo, Scott et al.³⁹ y Greco et al.³⁷ no observaron los mismos efectos para las vitaminas A, C y E administradas individualmente o en combinación con selenio. Asimismo, el complejo antioxidante de selenio y n-acetil-cisteína propuesto por Safarinejad et al.³⁶, mostró una mejora absoluta de todos los PACASE de los HI.

En segundo lugar, tanto Greco et al.³⁷ como Alahmar et al.³⁴ informaron mejoras sustanciales en ciertos BEOS. De esta manera, una disminución del IFADNE, así como un aumento de la CATPS y de la actividad enzimática de la SOD seminal fueron los hallazgos registrados en los ECAs llevados a cabo por tales investigadores, respectivamente.

Sin embargo, parece ser que ni los niveles elevados de ROS analizados por Kessopoulou et al.⁴¹, ni la baja integridad de la cromatina del esperma examinada por Steiner et al.³³, mostraron mejoras significativas en las intervenciones suplementadas. Igualmente, Raigani et al.⁴² no observaron mejoras en la concentración seminal de MDA ni en el número de lesiones del material genético de los EPZ.

Entre los ECAs cuyas muestras son mixtas, las intervenciones de Wong et al.⁴⁵ y Ebisch et al.⁴⁴ con suplementos combinados de ácido fólico + zinc produjeron aumentos significativos de la concentración y el recuento total de EPZ en los HI, pero este último también lo hizo en los HF examinados por Ebisch et al.⁴⁴ No obstante, un crecimiento de EPZ con formas anormales, así como una mejora de la morfología normal parecen experimentar respectivamente los HI y los HF que reciben la misma intervención en el ensayo de Wong et al.⁴⁵

Tabla 6. Efectos de la suplementación oral con vitaminas, minerales y/o otros micronutrientes en la calidad del semen.

| Autor/Año/Revista | País | Nivel de evidencia | Población estudiada | Intervención | Principales medidas de resultado | Resultados |
|--|--------|--|---|--|----------------------------------|--|
| Steiner et al. 2020 ³³ Fertility and Sterility | EEUU | ECA <i>Estudio piloto: Males, Antioxidants and Infertility (MOXI)</i> | n= 174 HI I: 85 C: 86 | I: formulación antioxidante (500 mg vit. C + 400 mg vit. E + 0,20 mg Se + 1000 mg LAC + 20 mg Zn + 1000 mcg ácido fólico + 10 mg licopeno/día/3 meses) C: placebo/día/3 meses | PACASE, IFADNE | Diferencias significativas entre ambos grupos, con ↑ en la concentración (p= 0,029), recuento total (p= 0,021) y movilidad de los EPZ (p= 0,043) en el grupo placebo No hubo diferencias significativas en el IFADNE (p= 0,548) |
| Alahmar et al. 2021 ³⁴ Biological Trace Element Research | Irak | ECA | n= 70 HI I: 35 C: 35 | I: 200 mg CoQ10/día/3 meses C: 200 mcg Se/día/3 meses | PACASE, IFADNE, CATPS, CAT, SOD | I: ↑ en la concentración y movilidad de los EPZ y ↑ de la CATPS y la actividad enzimática de SOD y CAT (p< 0,01) C: ↑ de la movilidad de los EPZ y ↑ de la CATPS y la actividad enzimática de SOD (p< 0,05) |
| Hawkes et al. 2009 ³⁵ Journal of Andrology | EEUU | ECA | n= 42 HF I: 22 C: 20 | I: 300 mcg Se/día/11 meses C: <1,5 mcg Se/día/11 meses | PACASE | Sin efectos estadísticamente significativos en los PACASE (p> 0,05) |
| Safarinejad et al. 2009 ³⁶ Journal of Urology | Irán | ECA | n= 468 HI I: 314 (116 Se, 118 NAC, 116 Se + NAC) C: 118 | I: 200 mcg Se, 600 mg NAC, 200 mcg Se + 600 mg NAC/día/26 semanas C: placebo/día/26 semanas | PACASE | Se, NAC o Se + NAC ↑ todos los PACASE (p= 0,01) |
| Greco et al. 2005 ³⁷ Journal of Andrology | Italia | ECA | n= 64 HI I: 32 C: 32 | I: 1 g vit. C + 1 g vit. E/día/2 meses C: placebo/día/2 meses | PACASE, IFADNE | No se encontraron diferencias significativas en los PACASE de ambos grupos (p> 0,05) ↓ significativa del IFADNE (p <0,001) en el grupo intervención |

| | | | | | | |
|--|----------------|-----|---|---|---|---|
| Rolf et al. 1999 ³⁸ Human Reproduction | Alemania | ECA | n= 31 HI I: 15 C: 16 | I: 1 g vit. C + 800 mg vit. E/día/8 semanas C: placebo/día/8 semanas | PACASE, Tasa de supervivencia de los EPZ a las 24 horas | Sin efectos significativos en PACASE en relación al inicio de la suplementación y a los del grupo control, ni tampoco en la tasa de supervivencia de los EPZ a las 24 horas (p> 0,05) |
| Scott et al. 1998 ³⁹ British Journal of Urology. | Escocia | ECA | n= 64 HI I: 46 (16 Se, 30 Se + vits. A, C y E) C: 18 | I: 100 mcg Se, 100 mcg Se + 1 mg vit. A + 10 mg vit. C + 15 mg vit. E/día/ 3 meses C: placebo/día/3 meses | PACASE | Solo el grupo que recibió Se experimentó un ↑ en la movilidad de los EPZ (p= 0,023) |
| Suleiman et al. 1996 ⁴⁰ Journal of Andrology | Arabia Saudita | ECA | n= 87 HI I: 52 C: 35 | I: 300 mg vit. E/día/6 meses C: placebo/día/6 meses | PACASE, MDA | ↑ la motilidad de los EPZ (p< 0,001) y ↓ la concentración de MDA (p< 0,001) |
| Kessopoulou et al. 1995 ⁴¹ Fertility and Sterility | Inglaterra | ECA | n= 30 HF con concentraciones ↑ de ROS (no se especifica el n° de sujetos de cada grupo) | I: 600 mg vit. E/día/3 meses C: placebo día/ 3 meses *Después de 1 mes de periodo de lavado, los grupos se intercambian | PACASE, ROS | Sin efectos significativos en PACASE ni ROS (p< 0,05) |
| Raigani et al. 2014 ⁴² Andrología | Irán | ECA | n= 83 HI I: 65 (20 ácido fólico + placebo, 24 zinc + placebo, 21 ácido fólico + zinc) C: 18 | 5 mg ácido fólico y/o 220 mg zinc y/o placebo/día/16 semanas | PACASE, IFADNE, MDA | No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en PACASE, IFADNE y concentración de MDA (p> 0,056) |
| Moreira et al. 2013 ⁴³ JBRA Assisted Reproduction | Brasil | ECA | n= 49 HI I: 23 C: 26 | I: 5 mg ácido fólico/día/3 meses C: placebo/día/3 meses | PACASE | No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en PACASE (p= 0,95) |
| Ebisch et al. 2006 ⁴⁴ International Journal of Andrology | Países Bajos | ECA | n= 87 H I: 42 (24 fértiles, 18 infértiles) C: 45 (23 fértiles, 22 infértiles) | I: 5 mg ácido fólico + 66 mg zinc/día/6 meses C: placebo/día/6 meses | PACASE | ↑ significativo de la concentración de EPZ en HI, pero no en HF (p= 0,007 y p= 0,45 respectivamente) ↑ significativo del recuento total de EPZ en ambos grupos (p= 0,009) |

| | | | | | | |
|--|--------------|-----|---|--|--------|--|
| Wong et al. 2002 ⁴⁵ Fertility and Sterility | Países Bajos | ECA | n= 193 H (108 fértiles y 103 infértiles, no se especifica el nº de sujetos de cada grupo) | 5 mg ácido fólico y/o 66 mg zinc y/o placebo/día/26 semanas | PACASE | HI: ↑ significativo del recuento total (p< 0,05) y la concentración de EPZ (p <0,001), pero ↑ del 4% de EPZ anormales (p< 0,01). HF: no se observaron cambios significativos, excepto en la morfología de los EPZ (p< 0,01) |
| Omu et al. 1998 ⁴⁶ European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology | Kuwait | ECA | n= 100 HI I: 49 C: 48 | I: 250 mg zinc/2 veces al día/3 meses C: sin suplementación | PACASE | ↑ significativo del recuento total (p< 0,02) y la motilidad (p< 0,05) de los EPZ |
| ECA: Ensayo controlado aleatorizado; HI: Hombres infértiles; HF: Hombres fértiles; I: Intervención; C: Control; PACASE: Parámetros de análisis de la calidad del semen; IFADNE: Índice de fragmentación del ADN espermático; CATPS: Capacidad antioxidante total del plasma seminal; CAT: Catalasa; SOD: Superóxido dismutasa; GPX: Glutatión peroxidasa; MDA: Malondialdehído; ROS: Especies reactivas de oxígeno; NAC: N-acetil-cisteína; LC: L-carnitina; LAC: L-acetil-carnitina; CoQ10: Coenzima Q10; DHA: Ácido docosahexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico; EPZ: Espermatozoides | | | | | | |

5.2. EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y ÁCIDO ALFA-LIPOICO

Nada más que 3 ECAs cumplieron los criterios de inclusión para la suplementación oral con ácidos grasos omega-3 o ácido alfa-lipoico, cuyos hallazgos se reflejan en la Tabla 7.

Según parece la administración de aceite enriquecido con DHA frente al GC que recibió aceite de girasol, causó mayor CATPS y menor porcentaje de EPZ con daño en el ADN, pero no logró efectos clínicamente importantes en los PACASE de HF⁴⁸.

Por otra parte, la combinación de DHA + EPA⁵⁰ produjo aumentos significativos de todos los PACASE y la actividad enzimática de la CAT y la SOS seminales en los HI. Del mismo modo, la suplementación con DHA y/o vitamina E mostró efectos positivos en ≥ 3 PACASE, aunque sólo el grupo que recibió vitamina E experimentó un aumento de la CATPS y una reducción de la concentración seminal de 8-isoprostano⁴⁷.

Respecto a la suplementación con ácido alfa-lipoico, únicamente el ensayo de Haghghian et al.⁴⁹ cumplió los requisitos metodológicos, de tal manera que mejoras en ≥ 3 PACASE, un aumento de la actividad enzimática de la CAT y una disminución de los niveles seminales de MDA, fueron los hallazgos evidenciados por estos autores.

Tabla 7. Efectos de la suplementación oral con ácidos grasos omega-3 y ácido alfa-lipoico en la calidad del semen.

| Autor/Año/Revista | País | Nivel de evidencia | Población estudiada | Intervención | Principales medidas de resultado | Resultados |
|--|--------|--------------------|--|--|-----------------------------------|---|
| Eslamian et al. 2020 ⁴⁷ American Journal of Clinical Nutrition | Irán | ECA | n= 164 HI (42 DHA + placebo, 41 vit. E + placebo, 41 DHA + vit. E, 40 placebo + placebo) | 465 mg DHA y/o 600 UI vit. E y/o placebo/día/12 semanas | PACASE, CATPS, MDA, 8-isoprostano | DHA, vit. E o DHA + vit. E ↑ significativamente el recuento total (p= 0,002), concentración (p< 0,001) y movilidad (p= 0,002) de los EPZ. El mayor efecto se observó en el grupo DHA + vit. E Grupo vit. E ↑ la CATPS (p< 0,001) y ↓ la concentración de MDA y 8-isoprostano (p= 0,025) |
| Martínez et al. 2016 ⁴⁸ Systems Biology in Reproductive Medicine | España | ECA | n= 57 HF I: 32 C: 25 | I: 1500 mg DHA/día/10 semanas (aceite enriquecido con DHA) C: 1500 mg de aceite de girasol/día/10 semanas | PACASE, IFADNE, CATPS | Sin efectos significativos en PACASE (p> 0,05). ↑ la CATPS (p< 0,01) y ↓ el IFADNE (p< 0,01) |
| Haghighian et al. 2015 ⁴⁹ Fertility and Sterility | Irán | ECA | n= 44 HI I: 23 C: 21 | I: 600 mg ácido alfa-lipoico/día/12 semanas C: placebo/día/12 semanas | PACASE, CATPS, CAT, MDA | I: ↑ del recuento total, concentración y movilidad de los EPZ (p< 0,001). ↑ la actividad enzimática de CAT (p= 0,001) y ↓ la concentración de MDA (p= 0,002) |
| Safarinejad et al. 2011 ⁵⁰ Andrología | Irán | ECA | n= 211 HI I: 106 C: 105 | I: 1,12 g EPA + 0,72 g DHA/día/32 semanas C: placebo/día/32 semanas | PACASE, CATPS, CAT, SOD | ↑ significativo de PACASE (p= 0,001) y la actividad enzimática de CAT y SOD (p= 0,001) |
| ECA: Ensayo controlado aleatorizado; HI: Hombres infértiles; HF: Hombres fértiles; I: Intervención; C: Control; PACASE: Parámetros de análisis de la calidad del semen; IFADNE: Índice de fragmentación del ADN espermático; CATPS: Capacidad antioxidante total del plasma seminal; CAT: Catalasa; SOD: Superóxido dismutasa; GPX: Glutación peroxidasa; MDA: Malondialdehído; ROS: Especies reactivas de oxígeno; NAC: N-acetil-cisteína; LC: L-carnitina; LAC: L-acetil-carnitina; CoQ10: Coenzima Q10; DHA: Ácido docosahexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico; EPZ: Espermatozoides | | | | | | |

5.3. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON COENZIMA Q10 (UBIQUINONA) Y CARNITINAS EN LA CALIDAD DEL SEMEN

De los 6 ECAs que evaluaron la suplementación con coenzima Q10 durante un periodo comprendido entre 12 y 26 semanas en HI, 2 estudios^{52,55} informaron significación estadística en la mejora de ≥ 3 PACASE, mientras que Alahmar et al.³⁴ y Balercia et al.⁵⁴ observaron un aumento de la concentración y/o movilidad de los EPZ.

Además, Alahmar et al.³⁴, Nadjarzadeh et al.^{51,53} evidenciaron efectos positivos en los BEOS, en cuanto a un aumento de la CATPS y la actividad enzimática de la SOD y la CAT seminales, así como menores concentraciones de 8-isoprotano y MDA.

Por otro lado, 4 ECAs utilizaron L-carnitina y/o L-acetil-carnitina como activos de elevada biodisponibilidad con efectos antioxidantes en el semen humano.

Según el ensayo de Micic et al.⁵⁶, la administración de Proxeed Plus, una poliformulación de carnitinas combinadas con otros micronutrientes (vitaminas B9 y B12, vitamina C, zinc, selenio, coenzima Q10, entre otros) 2 veces al día durante un periodo de 3 + 6 meses, causó un aumento significativo del volumen de eyaculado, la movilidad y la vitalidad de los EPZ de HI, así como una disminución del IFADNE. Ante estos hallazgos, parecen estar en concordancia las intervenciones de Balercia et al.⁵⁷. y Lenzi et al.^{58,59}., las cuales mostraron no sólo un mayor número de EPZ móviles y morfológicamente normales, sino también mejoras en la concentración espermática por ml de semen analizado.

En la Tabla 8 quedan gráficamente explicados los resultados obtenidos tras las intervenciones con coenzima Q10 y carnitinas.

Tabla 8. Efectos de la suplementación oral con coenzima Q10 (ubiquinona) y carnitinas en la calidad del semen.

| Autor/Año/Revista | País | Nivel de evidencia | Población estudiada | Intervención | Principales medidas de resultado | Resultados |
|--|--------|--------------------|-------------------------------|---|----------------------------------|--|
| Nadjarzadeh et al. 2014 ⁵¹ Andrología | Irán | ECA | n= 47 HI I: 23 C: 24 | I: 200 mg CoQ10/día/12 semanas C: placebo día/12 semanas (contiene lactosa) | PACASE, CAT, SOD, 8-isoprostano | Sin efectos significativos en PACASE (p> 0,05). ↑ la actividad de SOD (p< 0,005) y CAT (p< 0,05). ↓ la concentración de 8-isoprostano (p= 0,012) |
| Safarinejad et al. 2012 ⁵² Journal of Urology | Irán | ECA | n= 228 HI I: 114 C: 114 | I: 200 mg CoQ10/día/26 semanas C: placebo/día/26 semanas | PACASE | ↑ significativo de la concentración (p= 0,005), movilidad (p= 0,008) y morfología normal (p= 0,01) de los EPZ |
| Nadjarzadeh et al. 2011 ⁵³ Journal of Endocrinological Investigation | Irán | ECA | n= 47 HI I: 23 C: 24 | I: 200 mg CoQ10/día/12 semanas C: placebo/día/12 semanas (contiene lactosa) | PACASE, CATPS, CAT, MDA | Sin efectos significativos en PACASE (p> 0,05). ↑ la CATPS (0,017) y ↓ la concentración de MDA (p= 0,013) |
| Balercia et al. 2009 ⁵⁴ Fertility and Sterility | Italia | ECA | n= 55 HI I: 28 C: 27 | I: 200 mg CoQ10/día/26 semanas C: placebo/día/26 semanas | PACASE | Únicamente ↑ significativo de la movilidad de los EPZ (p< 0,0001) |
| Safarinejad et al. 2009 ⁵⁵ Journal of Urology | Irán | ECA | n= 194 HI I: 98 C: 96 | I: 300 mg CoQ10/día/26 semanas C: placebo/día/26 semanas | PACASE | ↑ significativo de PACASE (p< 0,07) |
| Micic et al. 2019 ⁵⁶ Andrología | Serbia | ECA | n= 175 HI I: 125 C: 50 | I: “ <i>Fórmula Proxeed Plus</i> ”: carnitinas combinadas con micronutrientes (1g LC + 0,5 g LAC + 0,725 g fumarato + 1 g fructosa + 50 mg ácido cítrico + 10 mg Zn + 20 mg CoQ10 + 50 mcg Se + 90 mg vit. C + 200 mcg ácido fólico + | PACASE, IFADNE | ↑ significativo del volumen de eyaculado (p= 0,001), movilidad (p< 0,001) y vitalidad (p= 0,002) de los EPZ. ↓ significativa del IFADNE (p< 0,001) |

| | | | | | | |
|--|--------|-----|--|--|--------|--|
| | | | | 1,5 mcg vit. B12/2 veces al día durante 3 meses + 2 meses de periodo de lavado + 6 meses) C: placebo/2 veces al día durante 3 meses + 2 meses de periodo de lavado + 6 meses; contiene sacarosa, sílice [antiaglomerante], saborizante, acesulfamo K [E950, edulcorante]) | | |
| Balercia et al. 2005 ⁵⁷ Fertility and Sterility | Italia | ECA | n= 59 HI I: 44 (15 LC, 15 LAC, 14 LC + LAC) C: 15 | I: 3 g LC, 3 g LAC, 2 g LC + 1 g LAC/día/26 semanas C: placebo/día/26 semanas (contiene ácido málico, benzoato de sodio, sacarinato de sodio dihidrato, citrato de sodio anhidro, aroma de piña y agua desmineralizada) | PACASE | LC, LAC o LC + LAC ↑ la movilidad y morfología normal de los EPZ (p= 0,001). LAC o LC + LAC ↑ la concentración de los EPZ (p= 0,015) |
| Lenzi et al. 2004 ⁵⁸ Fertility and Sterility | Italia | ECA | n= 56 HI I: 30 C: 26 | I: 2 g LC + 1 G LAC/día/26 semanas C: placebo/día/26 semanas | PACASE | Únicamente ↑ significativo de la movilidad de los EPZ (p= 0,042) |
| Lenzi et al. 2003 ⁵⁹ Fertility and Sterility | Italia | ECA | n= 86 HI (no se especifica el nº de sujetos de cada grupo) | 2 g LC o placebo/día 2 meses de intervención con LC/placebo con 2 meses de lavado previos y posteriores a la misma | PACASE | ↑ significativo de la concentración (p= 0,01) y movilidad (p= 0,04) de los EPZ |
| ECA: Ensayo controlado aleatorizado; HI: Hombres infértiles; HF: Hombres fértiles; I: Intervención; C: Control; PACASE: Parámetros de análisis de la calidad del semen; IFADNE: Índice de fragmentación del ADN espermático; CATPS: Capacidad antioxidante total del plasma seminal; CAT: Catalasa; SOD: Superóxido dismutasa; GPX: Glutatión peroxidasa; MDA: Malondialdehído; ROS: Especies reactivas de oxígeno; NAC: N-acetil-cisteína; LC: L-carnitina; LAC: L-acetil-carnitina; CoQ10: Coenzima Q10; DHA: Ácido docosahexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico; EPZ: Espermatozoides | | | | | | |

5.4. EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL CON LICOPENO Y N-ACETIL-CISTEÍNA EN LA CALIDAD DEL SEMEN

Tan sólo 4 ECAs fueron valorados como de alta calidad metodológica y, por lo tanto, cumplieron los criterios de elegibilidad para ser examinados en este trabajo. Los resultados evidenciados en estos ensayos se recopilan en la Tabla 9.

Dos de los cuatro estudios, uno realizado en Inglaterra⁶⁰ y otro en Irán⁶¹, evidenciaron efectos positivos en $2 \geq$ PACASE con la administración de licopeno. Además, Nouri et al.⁶¹ informó un aumento de la CATPS, pero no consiguió reducir las concentraciones de MDA ni potenciar la actividad de la GXP.

Los otros dos estudios restantes evaluaron los efectos antioxidantes de la N-acetil-cisteína en la IFM, cuyos resultados fueron tan positivos como estadísticamente significativos. De esta manera, tras 3 meses de intervención, Jannatifar et al.⁶² informaron tanto mejoras en $3 \geq$ PS, IFADNE e integridad de la cromatina, como mayor CATPS y menor concentración seminal de MDA. De manera análoga, Ciftci et al.⁶³ observaron muestras seminales más voluminosas y menos viscosas y un mayor número de EPZ móviles, así como una menor CATPS e índice de estrés oxidativo y una disminución de la peroxidación lipídica de la membrana de los EPZ.

Tabla 9. Efectos de la suplementación oral con licopeno y N-acetil-cisteína en la calidad del semen.

| Autor/Año/Revista | País | Nivel de evidencia | Población estudiada | Intervención | Principales medidas de resultado | Resultados |
|--|------------|--------------------|-----------------------------|---|---|---|
| Williams et al. 2020 ⁶⁰ European Journal of Nutrition | Inglaterra | ECA | n= 56 HF I: 28 C: 28 | I: 14 mg licopeno/día/12 semanas C: placebo/día/12 semanas | PACASE, IFADNE | ↑ significativo de la movilidad (p= 0,006) y morfología normal de los EPZ (p< 0,001) |
| Nouri et al. 2019 ⁶¹ Phytotherapy Research | Irán | ECA | n= 36 HI I: 17 C: 19 | I: 25 mg licopeno/día/12 semanas C: placebo/día/12 semanas | PACASE, CATPS, GPX, MDA, | ↑ significativo del recuento total, concentración y movilidad de los EPZ, así como del volumen de eyaculado (p< 0,05). ↑ significativo de la CATPS. Las concentraciones de GPX y MDA no mostraron cambios significativos en ambos grupos (p=0,48) |
| Jannatifar et al. 2019 ⁶² Reproductive Biology and Endocrinology | Irán | ECA | n= 50 HI | 600 mg NAC/día/3 meses | PACASE, IFADNE, Integridad de la cromatina del esperma, CATPS, MDA | ↑ significativo de la concentración (p= 0,02) y movilidad (p= 0,01) de los EPZ. ↓ significativa de la morfología anormal (p= 0,001) e IFADNE y (p= 0,001) y ↑ de la integridad de la cromatina (p= 0,009) de los EPZ. ↓ significativa de la concentración de MDA (p= 0,01 y ↑ de la CATPS (p= 0,01) |
| Ciftci et al. 2009 ⁶³ Urology | Turquía | ECA | n= 120 HI I: 60 C: 60 | I: 600 mg NAC/día/3 meses C: placebo/día/3 meses | PACASE, CATPS, Índice de peroxidación total, Índice de estrés oxidativo | ↑ del volumen (p< 0,05) y ↓ de la viscosidad (p< 0,001) del semen. ↑ de la movilidad de los EPZ (p< 0,05). ↑ de la CATPS (p< 0,001) y ↓ de los índices de peroxidación total y estrés oxidativo (p< 0,001) |
| ECA: Ensayo controlado aleatorizado; HI: Hombres infértiles; HF: Hombres fértiles; I: Intervención; C: Control; PACASE: Parámetros de análisis de la calidad del semen; IFADNE: Índice de fragmentación del ADN espermático; CATPS: Capacidad antioxidante total del plasma seminal; CAT: Catalasa; SOD: Superóxido dismutasa; GPX: Glutación peroxidasa; MDA: Malondialdehído; ROS: Especies reactivas de oxígeno; NAC: N-acetil-cisteína; LC: L-carnitina; LAC: L-acetil-carnitina; CoQ10: Coenzima Q10; DHA: Ácido docosahexaenoico; EPA: Ácido eicosapentaenoico; EPZ: Espermatozoides | | | | | | |

En segundo lugar, cabe mencionar la variabilidad intrínseca hallada en las intervenciones clínicas con los AOXID, pues desde mono/poliformulaciones con activos y dosis distintas hasta tomas únicas o fraccionadas, hasta tiempos de exposición que oscilan de los 2 a los 11 meses, son el resultado de los efectos heterogéneos observados (sinérgicos, potenciadores, reductores, dosis-dependiente, efecto placebo, etc.) tanto a nivel clínico como en términos estadísticos.

Por último, es de interés señalar que reacciones alérgicas, intolerancias o efectos derivados de desequilibrios en el sistema redox (estrés reductor por sobredosis de antioxidantes) no fueron informados en ninguno de los estudios.

6. APLICABILIDAD Y NUEVAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

A continuación, se pretende discutir las fortalezas y limitaciones halladas en el campo de investigación de los AOXID y la (in)fertilidad masculina.

En primer lugar, requiere especial mención las revisiones realizadas por Torres et al.⁶⁴, Majzoub et al.⁶⁵ y Salas et al.⁶⁶, ya que han contribuido a la consecución de los objetivos planteados en este trabajo y que se resumen en las siguientes líneas.

Por un lado, Torres et al. apuestan por una búsqueda amplia y variada con independencia del tipo de diseño o clasificación del estudio, incluyendo desde artículos de revisión, meta-análisis y estudios observacionales prospectivos hasta ensayos clínicos no controlados y ECAs.

Por otro lado, Majzoub et al. elaboran una revisión sistemática de acuerdo a las directrices de la Declaración PRISMA, identificando 29 estudios totales, de los cuales 19 son ensayos clínicos aleatorizados.

Sin embargo, parece ser que el broche de oro se lo lleva la revisión sistemática y el meta-análisis realizados por Salas et al., quienes deciden examinar la evidencia de más alto nivel a partir de la Declaración PRISMA como estrategia de búsqueda y un índice de riesgo de sesgo (ROB) basado en 7 categorías, para la evaluación de la calidad metodológica de los diferentes estudios.

En segundo lugar, se pretende mencionar los sesgos metodológicos más frecuentemente observados, entre los que destacan:

- Disformidad en los criterios de selección de los sujetos.
- Tamaños muestrales pequeños.
- Estudios que no estratifican por sexos.
- Determinación dudosa sobre qué AOXID emplear y cómo administrarlos (individualmente vs combinados), así como dosis y frecuencia de las tomas cuestionables.

- Falta de claridad en las explicaciones sobre la formulación de los AOXID y la biodisponibilidad de los activos.
- Variables relevantes que no se miden.
- Intervenciones con seguimientos insuficientes.
- Falta de control sobre la dieta de base y los posibles cambios dietéticos de los sujetos a lo largo de las intervenciones.

En cuanto al diseño de los estudios, se advierte un predominio de los estudios observacionales (analíticos prospectivos) sobre los estudios experimentales, siendo escasos aquellos con alta calidad metodológica, especialmente ensayos clínicos no aleatorizados y ECAs.

Como consecuencia, todas estas cuestiones constituyen, en cierta medida, parte de las limitaciones de este trabajo, que indudablemente encuentra dificultades en la interpretación, comparación y generalización de los hallazgos. Por lo tanto, todos los datos recopilados deben considerarse con cautela.

7. CONCLUSIÓN

Tras indagar minuciosamente en la literatura científica, se puede afirmar que diferentes AOXID, tales como vitaminas C y E, ácido fólico, selenio, zinc, ácidos grasos omega-3, ácido alfa-lipoico, coenzima Q10, carnitinas, licopeno y N-acetil-cisteína, fundamentalmente; se han relacionado positivamente con los PACASE y ciertos BEOS, tanto en HI como en HF.

Sin embargo, parece existir poco consenso sobre qué cantidad de componente es mínimamente eficaz o, por el contrario, alcanza un máximo umbral de tolerancia, así como la biodisponibilidad de los activos, el tipo de formulación ideal y la frecuencia/duración de la suplementación.

Por lo tanto, se concluye que, a día de hoy, no se han estandarizados criterios comunes para las estrategias de micronutrición terapéutica de la IFM y, concretamente, para una indicación más eficiente y segura de los AOXID.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, De Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary on ART terminology. *Human Reproduction*. 2009;24(11):2683-2687.
2. Organización Mundial de la Salud. Laboratory manual for the examination and processing of human semen: Fifth edition [Internet]. Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2010 [consultado el 2 de marzo del 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547789>
3. Nassan FL, Chavarro JE, Tanrikut C. Diet and men's fertility: does diet affect sperm quality? *Fertil Steril*. 2018;110(4):570-577.
4. Houfflyn S, Matthys C, Soubry A. Obesidad masculina: origen epigenético y efectos en el esperma y la descendencia. *Informes actuales de biología molecular*. 2017;3(4): 288-96.
5. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13:37.
6. Louis JF, Thoma ME, Sørensen DN, McLain AC, King RB, Sundaram R, Keiding N, Buck Louis GM. The prevalence of couple infertility in the United States from a male perspective: evidence from a nationally representative sample. *Andrology*. 2013;1(5):741-8.
7. Datta J, Palmer MJ, Tanton C, Gibson LJ, Jones KG, Macdowall W, Glasier A, Sonnenberg P, Field N, Mercer CH, Johnson AM, Wellings K. Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. *Hum Reprod*. 2016;31(9):2108-18.
8. Infertility and Fertility [internet]. EEUU: Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development; 1962 [actualizado el 31 de enero del 2017, consultado el 9 de abril del 2021]. Disponible en: <https://www.nichd.nih.gov/health/topics/infertility>
9. Leaver RB. Male infertility: An overview of causes and treatment options. *Br. J. Nurs*. 2016;25:35-40.
10. Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained male infertility: diagnosis and management. *Int Braz J Urol*. 2012;38(5):576-94.
11. Matorras R, Coroleu B, Romeu A, Pérez F. “La infertilidad en España: Situación Actual y Perspectivas” [internet]. España: Imago Concept & Image Development; 2011. [consultado el 12 de abril del 2021]. Disponible en: <https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/libros/libroBlanco.pdf>

12. Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, Henkel R, Shah R, Homa ST, et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*. 2019;37(3):296-312.
13. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*. 1992;305(6854):609-13.
14. Swan SH, Elkin EP, Fenster L. Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. *Environ Health Perspect*. 1997;105(11):1228-32.
15. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I, Pinotti R, Swan SH. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. *Hum Reprod Update*. 2017;23(6):646-659.
16. Polis CB, Cox CM, Tunçalp Ö, McLain AC, Thoma ME. Estimating infertility prevalence in low-to-middle-income countries: an application of a current duration approach to Demographic and Health Survey data. *Hum Reprod*. 2017;32(5):1064-1074.
17. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2012;9(12):e1001356.
18. Rosas MR. Infertilidad masculina. Causas, diagnóstico y tratamiento. *Divulgación sanitaria*. 2007;26(7):70-75.
19. Leisegang K, Henkel R, Rizk B, Agarwal A, Sabanegh E. (2019). Male infertility in reproductive medicine: diagnosis and management. *Male infertility in reproductive medicine: diagnosis and management*. Boca Raton: CRC Press. 2019:119-128.
20. Ahmadi S, Bashiri R, Ghadiri-Anari A, Nadjarzadeh A. Antioxidant supplements and semen parameters: An evidence based review. *Int J Reprod Biomed*. 2016;14(12):729-736.
21. Ko EY, Sabanegh ES Jr, Agarwal A. Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril*. 2014;102(6):1518-27.
22. Cardoso JP, Cocuzza M, Elterman D. Optimizing male fertility: oxidative stress and the use of antioxidants. *World J Urol*. 2019;37(6):1029-1034.
23. Kuchakulla M, Soni Y, Patel P, Parekh N, Ramasamy R. A Systematic Review and Evidence-based Analysis of Ingredients in Popular Male Fertility Supplements. *Urology*. 2020;136:133-141.
24. Henkel R, Sandhu IS, Agarwal A. The excessive use of antioxidant therapy: A possible cause of male infertility? *Andrologia*. 2019;51(1):e13162.

25. Oliver-Bonet M, Mach N. Factores nutricionales y no nutricionales pueden afectar la fertilidad masculina mediante mecanismos epigenéticos. *Nutr Hosp*. 2016;33(5):591.
26. Gunes S, Al-Sadaan M, Agarwal A. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2015;31(3):309-19.
27. Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;59:10-26.
28. Flesch FM, Gadella BM. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1469(3):197-235.
29. Wathes DC, Abayasekara DR, Aitken RJ. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol Reprod*. 2007;77(2):190-201.
30. Hurtado de Catalfo GE, de Alaniz MJ, Marra CA. Dietary lipids modify redox homeostasis and steroidogenic status in rat testis. *Nutrition*. 2008;24(7-8):717-26.
31. Aitken RJ, Wingate JK, De Iuliis GN, Koppers AJ, McLaughlin EA. Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(10):4154-63.
32. Danielewicz A, Przybyłowicz KE, Przybyłowicz M. Dietary Patterns and Poor Semen Quality Risk in Men: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2018;10(9):1162.
33. Steiner AZ, Hansen KR, Barnhart KT, Cedars MI, Legro RS, Diamond MP, Krawetz SA, Usadi R, Baker VL, Coward RM, Huang H, Wild R, Masson P, Smith JF, Santoro N, Eisenberg E, Zhang H; Reproductive Medicine Network. The effect of antioxidants on male factor infertility: the Males, Antioxidants, and Infertility (MOXI) randomized clinical trial. *Fertil Steril*. 2020;113(3):552-560.
34. Alahmar AT, Sengupta P. Impact of Coenzyme Q10 and Selenium on Seminal Fluid Parameters and Antioxidant Status in Men with Idiopathic Infertility. *Biol Trace Elem Res*. 2021;199(4):1246-1252.
35. Hawkes WC, Alkan Z, Wong K. Selenium supplementation does not affect testicular selenium status or semen quality in North American men. *J Androl*. 2009;30(5):525-33.
36. Safarinejad MR, Safarinejad S. Efficacy of selenium and/or N-acetyl-cysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*. 2009;181(2):741-51.
37. Greco E, Iacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, Ferrero S, Tesarik J. Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. *J Androl*. 2005;26(3):349-53.

38. Rolf C, Cooper TG, Yeung CH, Nieschlag E. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Hum Reprod.* 1999;14(4):1028-33.
39. Scott R, MacPherson A, Yates RW, Hussain B, Dixon J. The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. *Br J Urol.* 1998;82(1):76-80.
40. Suleiman SA, Ali ME, Zaki ZM, el-Malik EM, Nasr MA. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl.* 1996;17(5):530-7.
41. Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, Pearson MJ, Russell JM, Cooke ID, Barratt CL. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril.* 1995;64(4):825-31.
42. Raigani M, Yaghmaei B, Amirjannati N, Lakpour N, Akhondi MM, Zeraati H, Hajihosseinal M, Sadeghi MR. The micronutrient supplements, zinc sulphate and folic acid, did not ameliorate sperm functional parameters in oligoasthenoteratozoospermic men. *Andrologia.* 2014;46(9):956-62.
43. Moreira T, Canêdo M, Tacon J, Carmo F, Rodrigues C, Silva M. Folic acid does not improve semen parameters in subfertile men: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *JBRA Assisted Reproduction.* 2013;17(3):152-157.
44. Ebisch IM, Pierik FH, DE Jong FH, Thomas CM, Steegers-Theunissen RP. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? *Int J Androl.* 2006;29(2):339-45.
45. Wong WY, Merkus HM, Thomas CM, Menkveld R, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RP. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril.* 2002;77(3):491-8.
46. Omu AE, Dashti H, Al-Othman S. Treatment of asthenozoospermia with zinc sulphate: andrological, immunological and obstetric outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998;79(2):179-84.
47. Eslamian G, Amirjannati N, Noori N, Sadeghi MR, Hekmatdoost A. Effects of coadministration of DHA and vitamin E on spermatogram, seminal oxidative stress, and sperm phospholipids in asthenozoospermic men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2020;112(3):707-719.
48. Martínez-Soto JC, Domingo JC, Cordobilla B, Nicolás M, Fernández L, Albero P, Gadea J, Landeras J. Dietary supplementation with docosahexaenoic acid (DHA) improves seminal

- antioxidant status and decreases sperm DNA fragmentation. *Syst Biol Reprod Med*. 2016;62(6):387-395.
49. Haghghian HK, Haidari F, Mohammadi-Asl J, Dadfar M. Randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial examining the effects of alpha-lipoic acid supplement on the spermatogram and seminal oxidative stress in infertile men. *Fertil Steril*. 2015;104(2):318-24.
 50. Safarinejad MR. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Andrologia*. 2011;43(1):38-47.
 51. Nadjarzadeh A, Shidfar F, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, Nazeri Kakhki SA, Akhondi MM, Sadeghi MR. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on antioxidant enzymes activity and oxidative stress of seminal plasma: a double-blind randomised clinical trial. *Andrologia*. 2014;46(2):177-83.
 52. Safarinejad MR, Safarinejad S, Shafiei N, Safarinejad S. Effects of the reduced form of coenzyme Q10 (ubiquinol) on semen parameters in men with idiopathic infertility: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*. 2012;188(2):526-31.
 53. Nadjarzadeh A, Sadeghi MR, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, Gohari MR, Akhondi MA, Yavari P, Shidfar F. Coenzyme Q10 improves seminal oxidative defense but does not affect on semen parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: a randomized double-blind, placebo controlled trial. *J Endocrinol Invest*. 2011;34(8):e224-8.
 54. Balercia G, Buldreghini E, Vignini A, Tiano L, Paggi F, Amoroso S, Ricciardo-Lamonica G, Boscaro M, Lenzi A, Littarru G. Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertil Steril*. 2009;91(5):1785-92.
 55. Safarinejad MR. Efficacy of coenzyme Q10 on semen parameters, sperm function and reproductive hormones in infertile men. *J Urol*. 2009;182(1):237-48.
 56. Micic S, Lalic N, Djordjevic D, Bojanic N, Bogavac-Stanojevic N, Busetto GM, Virmani A, Agarwal A. Double-blind, randomised, placebo-controlled trial on the effect of L-carnitine and L-acetylcarnitine on sperm parameters in men with idiopathic oligoasthenozoospermia. *Andrologia*. 2019;51(6):e13267.
 57. Balercia G, Regoli F, Armeni T, Koverech A, Mantero F, Boscaro M. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-

- carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertil Steril.* 2005;84(3):662-71.
58. Lenzi A, Sgrò P, Salacone P, Paoli D, Gilio B, Lombardo F, Santulli M, Agarwal A, Gandini L. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril.* 2004;81(6):1578-84.
59. Lenzi A, Lombardo F, Sgrò P, Salacone P, Caponecchia L, Dondero F, Gandini L. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. *Fertil Steril.* 2003;79(2):292-300.
60. Williams EA, Parker M, Robinson A, Pitt S, Pacey AA. A randomized placebo-controlled trial to investigate the effect of lactycopene on semen quality in healthy males. *Eur J Nutr.* 2020;59(2):825-833.
61. Nouri M, Amani R, Nasr-Esfahani M, Tarrahi MJ. The effects of lycopene supplement on the spermatogram and seminal oxidative stress in infertile men: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res.* 2019;33(12):3203-3211.
62. Jannatifar R, Parivar K, Roodbari NH, Nasr-Esfahani MH. Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men. *Reprod Biol Endocrinol.* 2019;17(1):24.
63. Ciftci H, Verit A, Savas M, Yeni E, Erel O. Effects of N-acetylcysteine on semen parameters and oxidative/antioxidant status. *Urology.* 2009;74(1):73-6.
64. Torres-Arce E, Vizmanos B, Babio N, Márquez-Sandoval F, Salas-Huetos A. Dietary Antioxidants in the Treatment of Male Infertility: Counteracting Oxidative Stress. *Biology (Basel).* 2021;10(3):241.
65. Majzoub A, Agarwal A. Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility: Benefits on semen parameters, advanced sperm function, assisted reproduction and live-birth rate. *Arab J Urol.* 2018;16(1):113-124.
66. Salas-Huetos A, Rosique-Esteban N, Becerra-Tomás N, Vizmanos B, Bulló M, Salas-Salvadó J. The Effect of Nutrients and Dietary Supplements on Sperm Quality Parameters: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Adv Nutr.* 2018;9(6):833-848.