

# نقش رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در اختلالات باروری مردان و زنان: مقاله مروری

نسرین خردمند<sup>۱</sup>، زهرا نادى<sup>۲</sup>، دکتر مریم باعزم<sup>۳،۴\*</sup>

۱. کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.
۲. کارشناس ارشد گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۳. دکترای گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۴. دکترای گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۷

خلاصه

**مقدمه:** رادیکال‌های آزاد بر اساس سطح فیزیولوژیکی خود در بدن نقش دوگانه ایفا می‌کنند و می‌توانند مفید یا مضر باشند. مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی مکانیسم‌های سلولی و مولکولی استرس اکسیداتیو بر اسپرماتوژنز و اووژنز و نقش استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در بهبود باروری در مردان و زنان انجام شد.

**روش کار:** در این مقاله مروری مطالب مرتبط با نقش رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در اختلالات باروری مردان و زنان به زبان فارسی و انگلیسی در پایگاه‌های اطلاعاتی از جمله Elsevier, Scopus, SID, Iran Doc, Science direct, Google scholar, Pubmed, medex و Web of Science با استفاده از کلمات کلیدی رادیکال آزاد، ناباروری مردان، ناباروری زنان و آنتی‌اکسیدان بدون در نظر گرفتن بازه زمانی مورد جستجو قرار گرفتند. در نهایت ۶۳ مقاله وارد مطالعه مروری حاضر شدند.

**یافته‌ها:** تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد در دستگاه تناسلی مردانه باعث آسیب به DNA, RNA و غشای اسپرم و در نهایت اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز می‌گردد و در دستگاه تناسلی زنانه نیز باعث ایجاد اختلالاتی همانند نقص در تکامل و بلوغ اووسیت، رشد فولیکول و عملکرد جسم زرد می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های مطالعات قبلی، ممکن است مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها موجب برطرف کردن آثار مضر رادیکال‌های آزاد تولید شده بر بارداری مردان و زنان شود.

**کلمات کلیدی:** آنتی‌اکسیدان، رادیکال آزاد، ناباروری زنان، ناباروری مردان

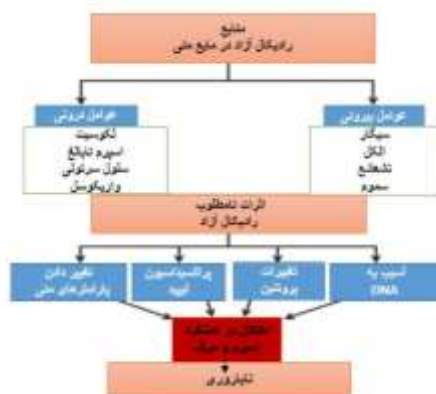
\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مریم باعزم؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران. تلفن: ۰۸۶-۳۴۱۷۳۵۰۵؛ پست الکترونیک:

Dr.baazm@arakmu.ac.ir

## مقدمه

امروزه حدود ۱۵-۱۰٪ زوجین از مشکل ناباروری رنج می‌برند. نیمی از این دلایل ناباروری مربوط به زنان و نیمی دیگر مربوط به مردان است (۱). مطالعات نشان

می‌دهد که حدود ۴۰-۲۵٪ ناباروری مردان مرتبط با افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (۲). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در مایع سمن مردان دارای دو منبع آندروژنی و آگزوژنی است (شکل ۱).



شکل ۱- منابع رادیکال‌های آزاد در مایع منی و اثرات زیان‌آور آن (۳)

منابع آندروژنی لکوسیت‌ها (لکوسیت‌های پراکسیداز مثبت)، اسپرم‌های غیرطبیعی، سلول‌های سرتولی و واریکوسل می‌باشند (۳). در شرایط پاتوژنیک مانند عفونت و التهاب، افزایش سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین ۸ و کاهش میزان برخی آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش رادیکال‌های آزاد رخ می‌دهد (۴). انتخاب شیوه زندگی، عوامل محیطی و شغلی نیز

به‌عنوان منابع آگزوژنی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نظر گرفته می‌شوند (۳). رادیکال‌های آزاد اکسیژن یکی از عوامل تأثیرگذار بر باروری زنان محسوب می‌شود. چاقی، سوء تغذیه، سیگار کشیدن، مصرف الکل و مواد مخدر و عوامل محیطی در زنان باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و متعاقباً اختلالات پاتولوژیک در سیستم تولید مثل زنان می‌گردد (شکل ۲) (۵).



شکل ۲- عوامل مؤثر در ایجاد استرس اکسیداتیو و تأثیرات آن بر تولید مثل زن (۵)

جهت کاهش عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد بر باروری در زنان و مردان از درمان‌های مختلف استفاده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها، یکی از رایج‌ترین درمان‌ها برای ناباروری ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو می‌باشند و با کاهش رادیکال‌های آزاد از عوارض نامطلوب آنها بر باروری جلوگیری می‌کنند

(۶). در این مطالعه، مرور کوتاهی بر ساختار رادیکال‌های آزاد و عملکرد آن داشته و سپس به نقش آن در ناباروری زنان و مردان و همچنین عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها که به‌عنوان درمان مکمل در ناباروری در دست مطالعه هستند، پرداخته می‌شود.

## روش کار

این مقاله مروری به منظور بررسی نقش رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در اختلالات باروری مردان و زنان انجام گرفت. ابتدا کلمات کلیدی free radicals، male infertility، female infertility، antioxidants به زبان فارسی و انگلیسی در پایگاه‌های اطلاعاتی از جمله Elsevier، Scopus، IranDoc، SID، PubMed، Google scholar، Web of Science و Sciencedirect مورد جستجو قرار گرفت. در جستجوی مقالات محدوده زمانی خاصی در نظر گرفته نشد. پس از بررسی عنوان و خلاصه

مقالات، مقالات غیرمرتبط با موضوع حذف و سپس جستجوی متن کامل مقالات انجام شد. مقالاتی که دسترسی به متن کامل آنها وجود نداشت، از مطالعه خارج شدند.

## یافته‌ها

از مجموع ۱۰۹ مقاله حاصل در جستجوی اول، ۴۶ مقاله به دلیل تکراری بودن، مرتبط نبودن و عدم دسترسی به متن کامل از مطالعه خارج شدند. در نهایت ۶۳ مقاله وارد مطالعه مروری حاضر شدند (شکل ۳).

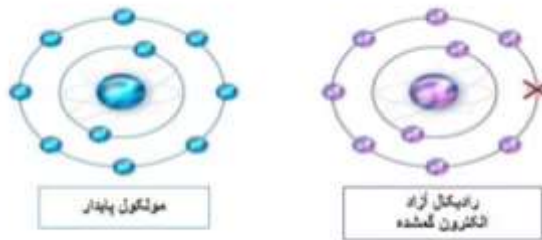


شکل ۳- فلوچارت انتخاب مقالات

آزاد، منجر به ناپایداری آنها می‌شود، از این رو جهت رسیدن به ثبات، با سایر اتم‌ها و مولکول‌های پایدار نزدیک واکنش داده و با گرفتن الکترون از آنها سعی می‌کنند حالت پایدار پیدا کنند (شکل ۴) (۷).

## رادیکال آزاد

رادیکال‌های آزاد، اتم یا گروهی از اتم‌ها هستند که در خارجی‌ترین لایه خود دارای الکترون غیرجفت (منفرد) می‌باشند. وضعیت غیرجفت الکترون در رادیکال‌های



شکل ۴- رادیکال آزاد (۷)

فعال اکسیژن (ROS)<sup>۱</sup> بوده که از مهم‌ترین آنها می‌توان به آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و

رادیکال‌های آزاد به دو صورت در سلول‌ها و بافت‌های مختلف بدن مشاهده می‌شوند: دسته اول رادیکال‌های

<sup>1</sup> Reactive oxygen species

هیدروکسیل اشاره کرد. دسته دوم رادیکال‌های فعال نیتروژن (RNS)<sup>۱</sup> هستند که نیتریک اکساید، از مهم‌ترین آنها به شمار می‌رود (۸).

### عمل رادیکال‌های آزاد

رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های فیزیولوژیک برای عملکرد طبیعی سلول ضروری بوده و افزایش کم تا متوسط آنها در تنظیم مسیرهای پیام‌رسان سلولی نقش مهمی دارد (۹). رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های بالا توانایی آسیب رساندن به بسیاری از مولکول‌های حیاتی مانند نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها و لیپیدها را دارا می‌باشند و باعث ایجاد نقص در ساختار و عملکرد این مولکول‌ها می‌گردند. شدت آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد به میزان، نوع و طول دوره مجاورت با آنها بستگی دارد (۱۰). در شرایط طبیعی شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های ناشی از آن در سلول و بافت توسط سیستم دفاعی سلول کنترل شده و بین تولید و تخریب ROS تعادل وجود دارد. رادیکال‌های آزاد بیشترین اثر تخریبی خود را بر غشاء سلولی و غشاء اندامک‌های داخل سلولی نظیر غشاء میتوکندری‌ها اعمال می‌کنند. با توجه به حضور فسفولیپیدها در غشاهای بیولوژیکی، این غشاهای به فشار اکسایشی (اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد) بسیار حساس بوده و به‌شدت به واکنش‌های زنجیره‌ای کمک می‌کنند (۷). از دیگر اجزای سلولی که رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث تخریب آنها شوند، می‌توان به DNA، RNA، DNA سلول (به‌ویژه موجود در میتوکندری)، آنزیم‌های پروتئینی فعال و غیرفعال در سلول، پروتئین‌های ساختاری و لیزوزوم‌ها اشاره کرد (۱۱).

### پراکسیداسیون لیپیدی

از اهداف گونه‌های فعال اکسیژن، اسیدهای چرب با بیش از یک باند دوگانه در غشاهای سلولی است که طی فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی باعث کاهش اسیدهای چرب می‌گردد. حاصل پراکسیداسیون لیپیدی، تولید متابولیت‌هایی مانند مالون دی‌آلدئید (MDA)<sup>۲</sup>، ۴- هیدروکسی ۲- نونال و اکرولیین

می‌باشند که با اتصال به پروتئین‌ها و تغییر در عملکرد آنها موجب مهار آنزیمی و تغییر در ساختار گیرنده و آسیب سلولی می‌گردند (۱۲).

### آسیب به DNA

از دیگر اهداف گونه‌های فعال اکسیژن، اسیدهای نوکلئیک است. رادیکال هیدروکسیل در اثر واکنش با DNA باعث تغییر قند دزوکسی ریبوز می‌گردد. از متابولیت‌های حاصل از آسیب اکسیداتیو به DNA می‌توان تیمین گلیکول و ۸-هیدروکسی گوانوزین را نام برد. فراوان‌ترین محصول آسیب اکسیداتیو به DNA و مارکر اصلی استرس اکسیداتیو ۸-هیدروکسی گوانوزین می‌باشد که در سلول‌های توموری پستان تجمع می‌یابد (۱۳).

### ارتباط رادیکال آزاد و سیستم تولید مثل مردان

محل اصلی تولید و هدف رادیکال آزاد در دستگاه تولید مثل مردان، میتوکندری اسپرم می‌باشد. تولید گونه‌های فعال اکسیژن مسیرهای سیگنالینگ مختلف وابسته به اکسیداسیون- احیا را فعال کرده و میتوکندری را وادار به تنظیم عملکرد اسپرم می‌کند. از سوی میتوکندری با تولید ATP می‌تواند فرآیند اسپرماتوزن، تمایز، واکنش آکروزومی، اتصال اسپرم به تخمک و لقاح را تنظیم نماید (۱۴). ایتکن و همکاران (۱۹۸۹) این فرضیه را مطرح کردند که مقادیر اندک ROS در تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیک اسپرم نقش دارد (۱۵). به‌نظر می‌رسد مقادیر فیزیولوژیک ROS برای بلوغ اسپرم، ظرفیت‌یابی، واکنش آکروزومی، هایپراکتیواسیون و اتصال اسپرم به تخمک ضروری می‌باشد، ولی سطح غیرطبیعی آن می‌تواند یکی از علل اصلی عملکرد معیوب اسپرم باشد. افزایش سطح رادیکال‌های آزاد متعاقب واریکوسل، پیچش بیضه، عفونت دستگاه ادراری تناسلی، لکوسیت و اسپرمی، الیگوزواسپرمی، تراتوزواسپرمی و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان رخ می‌دهد (۱۴).

غشای اسپرم انسان حاوی مقادیر بالای لیپید به‌خصوص اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه است. این ساختار غیرمعمول غشای اسپرم مسئول سالیته و عملکرد آن می‌باشد. با توجه به این

<sup>1</sup> Reactive nitrogen species

<sup>2</sup> Malondealdehyde

که اسیدهای چرب موجود در غشای اسپرم دارای پیوند دوگانه غیر مزدوج می‌باشند، بیشتر در معرض پراکسیداسیون لیپیدی غشاء قرار دارند (۱۶). پراکسیداسیون اسیدهای چرب منجر به از بین رفتن سیالت غشای اسپرم و کاهش فعالیت آنزیم‌های غشایی و همچنین کانال‌های یونی می‌گردد (۱۷). پراکسیداسیون لیپیدی ترکیبات سلولی زیادی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اما جایگاه‌های عمل اولیه آن اسیدهای چرب غیراشباع غشاء بوده و از طریق تغییر سیالیت و نفوذپذیری غشاء، آسیب‌های زیادی ایجاد می‌شود. با تجزیه اسیدهای پراکسید شده محصولات نهایی مختلفی از جمله مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌شود که به‌عنوان یک مارکر شناسایی واکنش رادیکال‌های آزاد با لیپیدهای غشاء مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸). گونه‌های فعال اکسیژن همچنین با آسیب به پروتئین‌های آکسونم، DNA، RNA و اختلال در عملکرد میتوکندری و فرآیند آپوپتوز، در ایجاد ناباروری نقش دارند (۱۴).

مک لئود برای اولین بار به نقش استرس اکسیداتیو در عملکرد ناقص اسپرم اشاره کرد. او نشان داد که استرس اکسیداتیو باعث نقص در DNA اسپرم می‌شود و از طریق آسیب به پروتئین‌ها و چربی‌های غشای پلاسمایی اسپرم، پتانسیل لقاح این سلول‌ها کاهش می‌یابد. در واقع افزایش استرس اکسیداتیو در مایع سمن مردان نابارور نشان‌دهنده اهمیت مکانسیم‌های استرس اکسیداتیو در ایجاد اختلالات ساختاری و ظرفیت‌های عملکردی اسپرم می‌باشد (۸).

در حالت عادی فشرده بودن DNA و حضور آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع منی، DNA اسپرم را از آسیب اکسیداتیو محافظت می‌نماید، اما مقادیر زیاد ROS منجر به آسیب به DNA اسپرم و افزایش شکستگی رشته‌های DNA می‌شود. در اسپرماتوزوآ افراد نابارور قطعه‌قطعه شدن DNA به‌دلیل غلظت بالای ROS مشاهده شده است (۱۹). عزیز و همکاران (۲۰۰۴) اولین کسی بود که به رابطه بین مورفولوژی اسپرم و تولید ROS پرداخت. نتایج مطالعه آنها نشان داد که بین تولید ROS توسط اسپرم و درصد

مورفولوژی طبیعی رابطه معکوس وجود دارد و تولید ROS به‌طور معناداری با افزایش درصد مورفولوژی غیرطبیعی همراه است (۲۰). آسیب به غشای اسپرم به‌دنبال تولید بیش از حد ROS منجر به کاهش تحرک اسپرم، غیرفعال شدن آنزیم‌های گلیکولیتیک و آسیب به غشای آکروزومی، اکسید شدن DNA و در نهایت باعث ناتوانی اسپرم در باروری تخمک می‌شود (۱۷). گزارشاتی در مورد ارتباط افزایش تولید ROS و پاتوزنز دستگاه تولید مثل مردان از جمله سرطان بیضه وجود دارد. از این رو کاهش تولید ROS با مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در تراکم DNA اسپرم و تقویت ظرفیت‌پذیری ایفا می‌کند (۲۱).

#### ارتباط رادیکال آزاد و سیستم تولید مثل زنان

رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌عنوان یکی از عوامل مهم در امر لقاح و باروری زنان محسوب می‌شوند و در مواردی نظیر بلوغ اووسیت، آترزی فیزیولوژیک فولیکول‌ها، عملکرد جسم زرد، آپوپتوز در طی فرآیند فولیکولوژنز، تخمک‌گذاری، تغییرات دوره‌های آندومتر، قاعدگی و حاملگی نقش دارند (۲۲). در بارداری نرمال نیز تعادل استرس اکسیداتیو بین جفت- جنین برقرار می‌باشد. رادیکال‌های آزاد در حاملگی‌های نرمال در پیشبرد و کنترل سرنوشت سلولی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۳). سطوح بالای رادیکال‌های آزاد با ایجاد اختلالات پاتولوژیکی مانند سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، آندومتریوز، ناباروری با عامل ناشناخته، پره‌اکلامپسی و سقط مکرر منجر به ناباروری می‌گردند (۲۴).

از آنجایی که تخمدان‌ها از نظر متابولیسمی فعال هستند، از این رو دائماً تحت تأثیر انواع استرس‌ها قرار دارند (۲۵). استرس اکسیداتیو بر روی عملکردهای مختلف تخمدان از جمله بلوغ تخمک، تخمک‌گذاری و عملکرد لوتئال تأثیر می‌گذارد (۲۶). سطح متوسط ROS برای تخمک‌گذاری هم ضروری است. آخرین مرحله بلوغ تخمک با تغییر در میزان سیتوکین‌ها، پروستاگلاندین‌ها، آنزیم‌های پروتئولیتیک، نیتریک اکسید و استروئیدها، موجب افزایش سطح ROS، تأثیر

استرس اکسیداتیو در طول حاملگی می‌تواند عوارضی از قبیل ناتوانی در بارداری مجدد، پره‌اکلامپسی و رشد ناقص داخل رحمی ایجاد کند (۳۴). علاوه بر این استرس اکسیداتیو و به‌دنبال آن پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند باعث نقص عملکرد سلول‌های عروق خونی در زنان باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی شود (۳۵). از این رو به‌نظر می‌رسد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در زنان نیز مانند مردان می‌تواند بر روند تولید مثل اثر مثبت داشته باشد.

### آنتی‌اکسیدان

آنتی‌اکسیدان ماده‌ای است که منجر به کاهش یا جلوگیری از اکسیداسیون سایر مولکول‌ها می‌شود و سلول‌ها را از آسیب ناشی از مولکول‌های ناپایدار که به‌عنوان رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شوند، حفاظت می‌کند (۳۶). آنتی‌اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد را با دو مکانیسم اصلی غیرفعال می‌کنند:

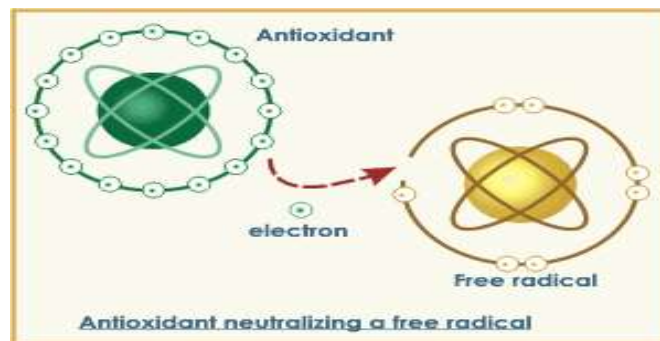
۱) روش وابسته به انتقال هیدروژن که در آن ماده آنتی‌اکسیدان با انتقال اتم هیدروژن به رادیکال آزاد باعث غیرفعال شدن آن در محیط می‌شود. روش وابسته به انتقال تک الکترون، که در آن ماده آنتی‌اکسیدان با انتقال تک الکترون به رادیکال آزاد، آن را به یک ترکیب خنثی تبدیل می‌کند. آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد باعث توقف فرآیند اکسیداسیون شده و برای انجام این کار خود آنتی‌اکسیدان‌ها اکسیده می‌شوند (شکل ۵). به‌همین دلیل وجود منابع آنتی‌اکسیدانی در بدن همواره مورد نیاز است (۳۷).

بر جریان گردش خون تخمدان‌ها و نهایتاً پارگی فولیکول می‌گردد (۲۷).

به‌نظر می‌رسد میزان رادیکال‌های آزاد به‌دنبال تحلیل جسم زرد افزایش می‌یابد و به‌دنبال آن ترشح پروژسترون مهار می‌شود (۲۸). مایع فولیکولی به‌عنوان یک محیط مهم برای تکامل اووسیت‌ها حاوی لکوسیت، ماکروفاژ و سیتوکین می‌باشد که منابع تولید ROS به‌شمار می‌آیند (۲۵). تغییرات استرس اکسیداتیو ترکیبات مایع فولیکولی بر مورفولوژی و کیفیت تخمک و جنین تأثیر می‌گذارد (۲۹).

رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث بروز جهش درگیرنده هورمون FSH شوند که این مسأله در نهایت منجر به تغییر پاسخ فولیکول‌های تخمدانی و فرآیندهای تخمک‌گذاری می‌شود (۳۰).

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شایع‌ترین اختلال غدد درون‌ریز زنان در سنین باروری محسوب می‌شود. در این بیماران، استرس اکسیداتیو یکی از علل افزایش تولید آندروژن در تخمدان، ایجاد فولیکول‌های غیرطبیعی و آسیب به DNA در سلول‌های اپی‌تلیوم تخمدان و آپوپتوز سلولی محسوب می‌شود (۳۱). همچنین این سندرم با افزایش ROS به‌دنبال اختلال در عملکرد میتوکندری و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان همراه است (۳۲). آندومتريوز یکی از دیگر از اختلالات در سیستم تولید مثل زنان محسوب می‌شود. آندومتريوز یک بیماری وابسته به استروژن است که بافت آندومتر در خارج از رحم تشکیل می‌گردد. اکثر مطالعات افزایش میزان رادیکال‌های آزاد را در مایع صفاقی و یا گردش خون بیماران مبتلا به آندومتريوز گزارش کرده‌اند (۳۳).



شکل ۵- نحوه خنثی شدن رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان (۳۷)

### اثر آنتی‌اکسیدان‌ها بر دستگاه تناسلی مردان

با توجه به حساسیت سلول‌های اسپرم به استرس اکسیداتیو و همچنین کم بودن میزان سیتوپلاسم و مقدار کم آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی در سیتوپلاسم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اسپرم با توجه به مورفولوژی خاص اسپرم، به‌تنهایی توانایی محافظت از غشاء پلاسم و اطراف آکروزوم و دم اسپرم را ندارند (۳۸). به‌همین دلیل اسپرماتوزوآ برای غلبه بر شرایط استرس اکسیداتیو به سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی خارج سلولی وابسته است (۱۹). یکی از راه‌های بهبود پارامترهای اسپرمی، سلامت DNA اسپرم و قدرت باروری در مردان نابارور مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مکمل جهت کاهش سطح استرس اکسیداتیو است (۳۹). مطالعات متعددی در زمینه بهبود پارامتر اسپرم‌ها و کاهش عوارض حاصل از برخی بیماری‌های دستگاه تناسلی مردانه از جمله واریکوسل به‌دنبال مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها گزارش شده است (۴۰، ۴۱). علاوه بر این افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به محیط کشت سلول‌های اسپرماتوگونی و یا محیطی که جهت فریز کردن آنها استفاده می‌شود، باعث افزایش کلونی‌زایی و کاهش آپوپتوز می‌گردد (۴۲-۴۴). در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها، انتخاب نوع، دوز و مدت مصرف آنتی‌اکسیدان باید نوع ناباروری و شدت آن را در نظر گرفت (۴۰). مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهند مصرف بیش از حد آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند اثرات مخربی بر روی سطح فیزیولوژیک ROSها داشته و فرآیندهای طبیعی وابسته به آن از جمله ظرفیت‌یابی و واکنش آکروزومی را مختل کند (۴۱). در دستگاه تناسلی مردان سه سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مختلف شامل: آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی، آنتی‌اکسیدان‌های آندوژنوپروتئین‌های متصل شونده به فلزات نقش‌های مهم و وابسته به هم در کاهش استرس اکسیداتیو ایفا می‌کنند (۴۲).

مایع سمینال و اسپرم مردان دارای آنتی‌اکسیدان‌های آندوژن از جمله آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و رودوکتاز) و غیرآنزیمی (آسکوربات پیرووات، یوبیکوئیتول،

گلوتاتیون، آلبومین، اورات، تورینو هیپوتورین، ویتامین‌های E و A) می‌باشد. مجموعه آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی یک مایع بیولوژیکی را ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)<sup>۱</sup> می‌نامند که نقش مهمی در خنثی‌سازی و جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد دارند. مایع منی مردان بارور ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بالایی نسبت به مایع منی مردان نابارور دارد (۴۳).

آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی به فرم ویتامین E، ویتامین C، بتاکاروتن، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها هستند. پروتئین‌های متصل شونده به فلز همانند آلبومین، سرولوپلاسمین، متالوتیونین، ترانسفرین، فریتین و میوگلوبین نیز باعث غیرفعال کردن انتقال یون‌های فلزی می‌شوند (۴۴). ویتامین E (α-توکوفرول) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (آنزیم مؤثر در برابر رادیکال‌های آزاد) را افزایش داده و با محدود کردن رادیکال‌های آزاد واکنش پراکسیدایون لیپید در غشاهای سلولی را مهار و از آنها محافظت می‌کند. این ویتامین در دستگاه تولید مثل مردانه باعث مهار اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد در بیضه و اسپرم می‌شود (۴۵).

آسکوربات، ویتامین E و اورات آنتی‌اکسیدان‌های اصلی مایع منی هستند. میزان این آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه آسکوربات در مایع منی افراد نابارور کمتر از مایع منی افراد بارور است (۴۶). کارنتین نیز که در گوشت و لبنیات به وفور یافت می‌شود، بالاترین غلظت در بدن انسان را در اپی‌دیدیم داشته و سبب محافظت از DNA و غشای سلول از صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود و مصرف آن تأثیر مثبتی بر افزایش میزان باروری مردان دارد (۴۷).

### اثر آنتی‌اکسیدان‌ها بر دستگاه تناسلی زنان

در سیستم تناسلی زنان نیز تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها توسط مکانیسم‌های محافظتی بدن در برابر اثرات استرس اکسیداتیو شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو مانند (سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، پروکسی ردوکسین‌ها) و

<sup>1</sup> Total antioxidant capacity

روند اسپرماتوژنز و تولید اسپرم غیرطبیعی هم می‌تواند منجر به تولید بیش از حد ROS گردد. در اسپرمیوژنز طبیعی، سیتوپلاسم اسپرم در مراحل تکوین باید حذف شود و هرگونه نقص در اسپرمیوژنز که مانع حذف کامل سیتوپلاسم شود، سبب ورود اسپرم همراه با سیتوپلاسم اضافه به انزال می‌شود. سیتوپلاسم اضافی مملو از آنزیم گلوکز-۶ - فسفات دهیدروژناز (G6PDH) است. این آنزیم ورود گلوکز را به مسیر متابولیسمی پنتوز فسفات و در نتیجه تولید NADPH را تنظیم می‌کند. مقادیر بالای H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> باعث مهار آنزیم G6PDH اسپرم‌های طبیعی و در نتیجه کاهش سطح NADPH و در نهایت کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز می‌گردد (۵۴). محققان بر این باورند که اسپرم بالغ به علت دارا بودن مقدار سیتوپلاسم محدود و سطح آنتی‌اکسیدان پایین نسبت به سایر سلول‌ها و همچنین سطوح بالای اسیدهای چرب اشباع نشده در ساختار غشاء خود، نسبت به سایر سلول‌ها، به استرس اکسیداتیو حساس‌تر است (۵۵، ۵۶). علاوه بر این، با توجه به مورفولوژی خاص اسپرم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اسپرم توانایی محافظت از غشاء پلاسم و اطراف آکروزوم و دم را ندارند. بنابراین، سلامت و باروری اسپرم به شدت وابسته به در دسترس بودن آنتی‌اکسیدان‌ها است و اگر آنتی‌اکسیدان‌ها به هر طریقی از قبیل شستشو از اسپرم جدا شوند، اسپرم حساس به آسیب اکسیداتیو می‌گردد (۱۰، ۵۷).

از این رو استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها باعث بهبود پارامترهای اسپرم مانند تعداد، تحرک و زنده ماندن می‌شود و کیفیت و تعداد باروری‌ها را افزایش می‌دهد (۵۸). اثرات مثبت استفاده از کارنیتین، کوآنزیم Q10، ویتامین E و ویتامین C در بیماران آستنوسپرمیک نشان داده شده است که می‌تواند استرس اکسیداتیو، آپوپتوز و معیار قطعه قطعه شدن DNA اسپرم را کم کند (۶۳). هرچند به نظر می‌رسد استفاده بیش از حد از برخی آنتی‌اکسیدان‌ها باعث آسیب به سلول‌ها می‌شود از این رو باید در استفاده از آنها این موضوع توجه نمود (۵۹). در زنان نیز رادیکال‌های آزاد در مواردی نظیر بلوغ اووسیت، آترزی فیزیولوژیک

آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی برقرار می‌گردد (۴۸). با توجه به پاتوژنز رادیکال‌های آزاد، در مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها، انتخاب نوع، دوز و مدت مصرف آنها در زنان نیز همانند مردان اهمیت به‌سزایی دارد (۴۰). به‌نظر می‌رسد که کاهش استرس اکسیداتیو با تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند سبب کاهش اثرات بالقوه مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه افزایش تعداد، کیفیت اووسیت‌ها و فولیکول‌ها و همچنین مهار آپوپتوز فولیکول‌های تخمدان شود (۴۹).

سوپراکسید دسموتاز یک آنتی‌اکسیدان آنزیمی است که در سلول‌های تکای داخلی فولیکول‌های آنترال، سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تجزیه می‌کند. از این رو این آنزیم طی بلوغ تخمک، از آن در برابر افزایش ROS محافظت می‌کند (۲۶). مطالعات Carbone روی سوپراکسید دسموتاز زنان بارور نشان داد که سطح آنزیم سوپراکسید دسموتاز در زنان مسن نسبت به زنان جوان پایین‌تر است و میزان باروری در آنها کم‌تر است (۵۰). ترانسفرین یکی دیگر از آنتی‌اکسیدان‌های غذایی مهم در سلامت فولیکول‌ها است که تولید ROS را سرکوب می‌کند (۵۱). سطح ویتامین C همراه با ویتامین‌های E و A در پره‌اکلامپسی کاهش می‌یابد (۵۲). همچنین کمبود ویتامین C در تخمدان‌ها منجر به آتروفی، آترزی و تجدید زود هنگام میوز فولیکول‌ها می‌شود و استفاده از این ویتامین سبب افزایش بلوغ فولیکول و اووسیت می‌شود (۵۳).

## بحث

افزایش سطح ROS یکی از علل مهم ناباروری مردان و زنان است. سطح فیزیولوژیک ROS برای بلوغ اسپرم، ظرفیت‌یابی، واکنش آکروزومی، هایپراکتیواسیون و اتصال اسپرم به تخمک لازم است، ولی سطح غیرطبیعی آن می‌تواند باعث آسیب به DNA، RNA اسپرم و اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز گردد. آسیب به DNA اسپرم می‌تواند کاهش توانایی لقاح، اختلال در رشد نمو جنین، عدم بارداری و نقص در هنگام تولد را به همراه داشته باشد (۱۴). از طرف دیگر با اختلال در



فولیکول‌ها، تحلیل و تشکیل جسم زرد، فولیکولوژنز و تخمک‌گذاری، تغییرات آندومتر، قاعدگی و حاملگی نقش دارند (۶۰).

با توجه به اینکه تخمدان از نظر متابولیسی یک عضو فعال است به‌طور مداوم تحت تاثیر انواع استرس‌ها می‌باشد (۶۱). ملکول‌های ROS باعث آسیب به DNA اپی‌تلیوم تخمدانی یا آپوپتوز سلولی می‌شود. با این حال وضعیت اکسیداتیوی سلول، رشد فولیکولی، تشکیل جسم زرد، تمایز آندومتری و رشد جنینی را تعدیل می‌کند (۶۲). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند رزوراترول و ملاتونین با بهبود تعداد و کیفیت اووسیت‌ها اثر مثبتی بر باروری دارند، هرچند که در برخی اختلالات آنتی‌اکسیدان‌ها بی‌اثر بوده‌اند (۶۳). با توجه به اینکه در زمینه اثرات مثبت آنتی‌اکسیدان‌ها بر باروری زنان و مردان مطالعات مختلفی به‌صورت جداگانه انجام شده است، اما مطالعه همزمان بر هر دو جنس از نقاط قوت این مطالعه محسوب می‌شود.

## نتیجه‌گیری

در شرایط طبیعی آنتی‌اکسیدان‌ها شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های ناشی از آن در سلول و بافت توسط سیستم دفاعی سلول را کنترل می‌کنند و یک تعادل بین تولید و تخریب ROS به‌وجود می‌آورند. بنابراین با توجه به مکانیسم‌های آسیب‌رسان ROS و اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در خنثی کردن این آسیب‌ها، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها جهت بهبود ناباروری زنان و مردان توصیه می‌گردد. هرچند مقدار مصرف و مدت زمان استفاده از آنها برای هر بیماری احتیاج به بررسی‌های بیشتر دارد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از نویسندگان مقالات استفاده شده در این مقاله مروری، تقدیر و تشکر می‌شود.

## منابع

1. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertility and sterility* 1991; 56(2):192-3.
2. De Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Human Reproduction* 1995; 10(suppl\_1):15-21.
3. Potts JM, Pasqualotto FF. Seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis. *Andrologia* 2003; 35(5):304-8.
4. Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK, Thomas JR AJ, Agarwal A. Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *The Journal of urology* 1999; 161(6):1831-4.
5. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive biology and endocrinology* 2012; 10(1):1-31.
6. Barik G, Chaturvedula L, Bobby Z. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility: An interventional study. *Journal of Human Reproductive Sciences* 2019; 12(3):204.
7. Vina J, Borras C, Abdelaziz KM, Garcia-Valles R, Gomez-Cabrera MC. The free radical theory of aging revisited: the cell signaling disruption theory of aging. *Antioxidants & redox signaling* 2013; 19(8):779-87.
8. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews* 2008; 88(4):1243-76.
9. Aldred S. Oxidative and nitrative changes seen in lipoproteins following exercise. *Atherosclerosis* 2007; 192(1):1-8.
10. Du Plessis SS, Agarwal A, Halabi J, Tvrdá E. Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. *Journal of assisted reproduction and genetics* 2015; 32(4):509-20.
11. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2(9):647-56.
12. Omar ME AS, Eman R Y, Hafez F H. The antioxidant status of the plasma in patients with breast cancer undergoing chemotherapy. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology* 2011; 2011.
13. Klaunig JE, Kamendulis LM, Hoocevar BA. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. *Toxicologic pathology* 2010; 38(1):96-109.
14. Buzadzic B, Vucetic M, Jankovic A, Stancic A, Korac A, Korac B, et al. New insights into male (in) fertility: the importance of NO. *British journal of pharmacology* 2015; 172(6):1455-67.

15. John Aitken R, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biology of reproduction* 1989; 41(1):183-97.
16. Zarghami N, Khosrowbeygi A. Evaluation of lipid peroxidation as an indirect measure of oxidative stress in seminal plasma. *International Journal of Reproductive BioMedicine* 2004; 2(1):34-0.
17. Ollero M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K, et al. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Human reproduction* 2001; 16(9):1912-21.
18. Trifunovic A, Hansson A, Wredenberg A, Rovio AT, Dufour E, Khvorostov I, et al. Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2005; 102(50):17993-8.
19. Fanaei H, Keshtgar S, Bahmanpour S, Ghannadi A, Kazeroni M. Beneficial effects of  $\alpha$ -tocopherol against intracellular calcium overload in human sperm. *Reproductive Sciences* 2011; 18(10):978-82.
20. Aziz N, Saleh RA, Sharma RK, Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas Jr AJ, et al. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. *Fertility and sterility* 2004; 81(2):349-54.
21. Aitken RJ. The Amoroso Lecture The human spermatozoon—a cell in crisis?. *Reproduction*. 1999; 115(1):1-7.
22. Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB. Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Human reproduction update* 2008; 14(4):345-57.
23. Matteucci E, Giampietro O. Oxidative stress in families of type 1 diabetic patients. *Diabetes care* 2000; 23(8):1182-6.
24. Sekhon L, Gupta S, Kim Y, Agarwal A. Female infertility and antioxidants. *Current Women's Health Reviews* 2010; 6(2):84-95.
25. Fujii J, Iuchi Y, Okada F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reproductive biology and endocrinology* 2005; 3(1):43.
26. Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura Y, Kato H. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Molecular human reproduction* 2000; 6(1):19-25.
27. Du B, Takahashi K, Ishida GM, Nakahara K, Saito H, Kurachi H. Usefulness of intraovarian artery pulsatility and resistance indices measurement on the day of follicle aspiration for the assessment of oocyte quality. *Fertility and sterility* 2006; 85(2):366-70.
28. Terada LS. Specificity in reactive oxidant signaling: think globally, act locally. *The Journal of cell biology* 2006; 174(5):615-23.
29. Revelli A, Delle Piane L, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reproductive biology and endocrinology* 2009; 7(1):40.
30. Miyamoto K, Sato EF, Kasahara E, Jikumaru M, Hiramoto K, Tabata H, et al. Effect of oxidative stress during repeated ovulation on the structure and functions of the ovary, oocytes, and their mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine* 2010; 49(4):674-81.
31. Dikmen A, Ergenoglu AM, Yeniel AO, Dilsiz OY, Ercan G, Yilmaz H. Evaluation of glycemic and oxidative/antioxidative status in the estradiol valerate-induced PCOS model of rats. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2012; 160(1):55-9.
32. Victor VM, Rocha M, Bañuls C, Alvarez A, de Pablo C, Sanchez-Serrano M, et al. Induction of oxidative stress and human leukocyte/endothelial cell interactions in polycystic ovary syndrome patients with insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011; 96(10):3115-22.
33. Polak G, Kozioł-Montewka M, Gogacz M, Błaszczowska I, Kotarski J. Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2001; 94(2):261-3.
34. Webster RP, Roberts VH, Myatt L. Protein nitration in placenta—functional significance. *Placenta* 2008; 29(12):985-94.
35. Mert I, Sargin Oruc A, Yuksel S, Cakar ES, Buyukkagıncı U, Karaer A, et al. Role of oxidative stress in preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 2012; 38(4):658-64.
36. Kere M, Siriboon C, Lo NW, Nguyen NT, Ju JC. Ascorbic acid improves the developmental competence of porcine oocytes after parthenogenetic activation and somatic cell nuclear transplantation. *Journal of Reproduction and Development* 2012.
37. Orazizadeh M, Khorsandi LS, Hashemitabar M. Toxic effects of dexamethasone on mouse testicular germ cells. *Andrologia* 2010; 42(4):247-53.
38. Agarwal A, Sekhon LH. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: is it justified?. *Indian journal of urology: IJU: journal of the Urological Society of India* 2011; 27(1):74.
39. Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, Pearson MJ, Russell JM, Cooke ID, et al. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertility and Sterility* 1995; 64(4):825-31.
40. Showell MG, Mackenzie- Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014(12).

41. Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Iulii GN. Oxidative stress and male reproductive health. *Asian journal of andrology* 2014; 16(1):31.
42. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary medicine international* 2011; 2011.
43. Lewis SE, Boyle PM, McKinney KA, Young IS, Thompson W. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertility and sterility* 1995; 64(4):868-70.
44. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress & male infertility. *Indian Journal of Medical Research* 2009; 129(4):357.
45. Eskenazi B, Kidd SA, Marks AR, Slotter E, Block G, Wyrobek AJ. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Human reproduction* 2005; 20(4):1006-12.
46. Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertility and sterility* 1997; 67(1):142-7.
47. Zhou X, Liu F, Zhai S. Effect of L-carnitine and/or L-acetyl-carnitine in nutrition treatment for male infertility: a systematic review. *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 2007; 16:383.
48. Štajner D, Milić N, Čanadanović-Brunet J, Kapor A, Štajner M, Popović BM. Exploring Allium species as a source of potential medicinal agents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 2006; 20(7):581-4.
49. Liu J, Liu M, Ye X, Liu K, Huang J, Wang L, et al. Delay in oocyte aging in mice by the antioxidant N-acetyl-L-cysteine (NAC). *Human reproduction* 2012; 27(5):1411-20.
50. Carbone MC, Tatone C, Monache SD, Marci R, Caserta D, Colonna R, et al. Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: characterization and age-dependent changes. *MHR: Basic science of reproductive medicine* 2003; 9(11):639-43.
51. Briggs DA, Sharp DJ, Miller D, Gosden RG. Transferrin in the developing ovarian follicle: evidence for de-novo expression by granulosa cells. *MHR: Basic science of reproductive medicine* 1999; 5(12):1107-14.
52. Kharb S. Vitamin E and C in preeclampsia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2000; 93(1):37-9.
53. Sharami SH, Bahadori MH, Fakor F, Mirblouk F, Kazemi S, Pourmarzi D, et al. Relationship between follicular fluid and serum levels of vitamin C and oocyte morphology and embryo quality in patients undergoing in vitro fertilization. *IJWHR* 2017; 5:41-6.
54. Agarwal A, Said TM. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJU international* 2005; 95(4):503-7.
55. Asadi N, Bahmani M, Kheradmand A, Rafeian-Kopaei M. The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: a review. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* 2017; 11(5):IE01.
56. Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *American journal of reproductive immunology* 2008; 59(1):2-11.
57. Aslani BA, Ghobadi S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences* 2016; 146:163-73.
58. Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarasamy A, et al. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online* 2010; 20(6):711-23.
59. Henkel R, Sandhu IS, Agarwal A. The excessive use of antioxidant therapy: A possible cause of male infertility? *Andrologia* 2019; 51(1):e13162.
60. Bhardwaj JK, Mittal M, Saraf P, Kumari P. Pesticides induced oxidative stress and female infertility: a review. *Toxin Reviews* 2020; 39(1):1-13.
61. Fujii J, Iuchi Y, Okada F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reproductive biology and endocrinology* 2005; 3(1):1-10.
62. Ghasemzadeh A, Farzadi L, Khaki A, Ahmadi SK. Effect of Allium cepa seeds ethanolic extract on experimental polycystic ovary syndrome (PCOS) apoptosis induced by estradiol-valerate. *Life Science Journal* 2013; 10(SUPPL. 4):170-5.
63. Wang S, He G, Chen M, Zuo T, Xu W, Liu X. The Role of Antioxidant Enzymes in the Ovaries. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017:4371714.