------مجلة علوم الرافدين، المجلد 23، العدد 2، ص128-147، 2012------

الكرب التأكسدي لدى النساء العقيمات في محافظة نينوى

لؤي عبد الهلالي **عبيدة عبد الخالق القدو**

قسم الكيمياء

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 5/ 10 / 2011 ؛ تاريخ القبول 21 / 11 / 2011)

الملخص

تضمن البحث دراسة تأثير الكرب التأكسدي على العقم بنوعيه (الأولي والثانوي) في الإناث فضلا عن تأثير الوزن (BMI) في مدى زيادة حصول الكرب التأكسدي عن طريق قياس (17) متغير من المتغيرات الأكسدة ومضادات الأكسدة، اذ أجريت هذه الدراسة على (223) نموذج لإنـاث تراوحـت أعمارهـُن بيـن (19-45) سنة وشملت على (179) عقيمة والتي قسمت كل منهما إلى مجموعتين بالاعتماد على نوعية العقم. فضلا عن ذلك استخدمت (44) عينة بوصفها مجموعة سيطرة من نفس الأعمار والجنس.

أشارت النتائج إلى وجود انخفاض معنوي لدى العقيمات من النوع الأولي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة للمتغيرات: فيتامين C، فيتامين E، الكلوتاثايون (GSH)، البليروبين الكلي، حامض الفوليك والخارصين، وارتفاع معنوي للمتغيرات: إنزيم كلوتاثايون S-ترانسفريز(GST)، الألبومين، النحاس، الحديد، السيرولوبلازمين(Cp)، المالونداي الديهايد(MDA) وبيروكسي نيتريت. أما في العقيمات من النوع الثانوي فوجد لديهن انخفاض معنوي عند مقارنتهن مع مجموعة السيطرة للمتغيرات: فيتامين C، فيتامين E، GSH، البليروبين الكلي، حامض الفوليك، الخارصين والنحاس وارتفاع معنوي للمتغيرات: إنزيم كلوتاثايون بيروكسيديز(GPx)، إنزيم GST، Cp، MDA وبيروكسي نيتريت. علاوة على ذلك، فقد وجد أن حالة الكرب التأكسدي تزداد في العقيمات من النوع الثانوي مقارنة بالعقيمات من النوع الاولي وذلك لزيادة في مستوى مضادات الأكسدة وانخفاض في مستوى الأكسدة في العقيمات من النوع الأولي.

فضلا عن ذلك فقد تمت دراسة تأثير الوزن المفرط للعقيمات على مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة تبين وجود علاقة طرديه بين زيادة الوزن (BMI) وتركيزي MDA وبيروكسي نيتريت وعلاقة عكسية مع مستويات مضادات أكسدة عدة (مثل فيتامين C، فيتامين E، البليروبين الكلي، حامض الفوليك وحامض اليوريك).

الكلمات الدالة: كرب تأكسدي، العقم، نينوى، مضادات الأكسدة، الأكسدة، منسب كتلة الجسم.

Oxidative Stress for Women Infertility in Ninava Governorate

Luay A. Al-Helaly **Obeda A. Al-Kado**

Department of Chemistry
College of Science
University of Mosul

ABSTRACT

The research included a study of oxidative stress in infertility female for two types (Primary and secondary) in Ninava governorate, beside of the effects of Body mass index (BMI) on oxidative stress of infertility through measuring (17) oxidants and antioxidants parameters. The study was carried out on (223) sample of women (age 19 – 45 year). The infertility (179) divided into two groups (depending on types of infertility). Non infertility (44) were included in the study as control with similar age and sex.

The group of primary infertility showed significant decrease concentrations of vitamin C, vitamin E, glutathione, total bilirubin, folic acid and zinc when compared with control, while there was a significant increase of: glutathione S-transferase(GST), albumin, copper, iron, ceruloplasmin (Cp), moloudialehyde (MDA) and peroxynitrite. While, the secondary infertility showed significant decrease concentrations of vitamin C, vitamin E, GSH, total bilirubin, folic acid, zinc and copper, and there was a significant increased of : GPx, GST, Cp, MDA and peroxynitrite. Moreover, the oxidative stress showed increased in secondary infertility compared with Primary infertility because of increased of antioxidants and decreased of oxidants in primary infertility.

Beside of, the study showed the effect of BMI on the oxidants and antioxidants levels. The results revealed that there were direct correlation between BMI increase with the concentrations of (MDA, peroxynitrite) and inverse correlation with the concentrations of antioxidants (For example vitamin C, vitamin E, SOD, total bilirubin, folic acid and uric acid).

Keywords: Oxidative stress, Infertility, Ninava, Antioxidants, Oxidants, Body Mass Index.

المقدمة

يعرف العقم Infertility بأنه عدم القدرة على حدوث إخصاب او الحمل بعد سنة واحدة أو ستة أشـهر من المحاولة (Asrm, 2004) كذلك تعد بعض النساء عقيمات كاللواتي يستطعن الحمل ولكن غيـر قـادرات على أبقاء الحمل يمكن عده عقماً أيضا والذي يحدث غالبا للنساء بأعمار 35 سنة فما فوق، إذ يـشكل العقـم نسبة (10-15%) من حالات الزواج في العالم ومسؤوليته مشتركة بين الزوجين إذ يساهمان كلاهمـا فـي ذلك، أو يعزى لأحدهما. أوضحت منظمة الصحة العالمية إن 24% من حالات العقم تعود لأسباب كامنة في كلا الزوجين و 41% أسبابها متعلقة بالزوجة و 24% تعـود للـزوج و11% غيـر معـروف الأسـباب (Han and May, 2010 ; Makker *et al.*, 2009). والعقم يكون على نوعين: عقم أولي وعقم ثانوي، اذ أن

العقم الأولي هو العقم الذي يصيب المرأة منذ بداية حياتها الزوجية، أما العقم الثانوي هو العقم الذي يـصيب المـرأة بعـد إنجـاب طفـل أو طفلـين أو بعـد إجـراء عمليـة إجهـاض لهـا (Abida-Malik *et al*., 2006 ; Pyari *et al*.,2006)، وهناك العقُم غير المفسر Unexplained infertility (Agarwal *et al*., 2004) والذي يعد أكثر غموضاً من أي نوع أخر للعقم ويمكن أن ينتج من خلال زيـادة أصناف الأوكسجين الفعالة في التجويف البريتوني Peritoneal cavity إذ وجد إن فـي الـسائل البريتـوني Peritoneal fluid لنـساء مـصابات بـالعقم مـستويات عاليـة مـن أصـناف الأوكـسجين الفعالـة (Wang *et al*., 1997) وانخفاض في مستويات مضادات الأكسدة بالنسبة للعقم غير المفسر اقل مقارنة مـع مجموعة السيطرة (Polak *et al*., 2001)، والأكسدة تحدث بصورة رئيسة من أصناف الأوكـسجين الفعالـة Reactive oxygen species (ROS) وأصناف النيتروجين الفعالـة Reactive nitrogen species (RNS) ومشتقاتهما في المقابل يتم التخلص منها عن طريق اعتراضها او تعديلها او إزالتها من قبل مضادات أكـسدة مختلفة، إذ يحدث الكرب التأكسدي Oxidative stress عندما يكون مستوى مركبات الأكسدة (الحاوية أو غير الحاوية على جذور الحرة) يتجاوز قدرة مضادات الأكسدة على إزالتها، وللجذور الحرة القدرة علـى تـدمير الخلايا والدهون والبروتينات فيها (Idogun *et al*., 2008). أن تأثير الكرب التأكسدي على الجـسم يكـون واضحاً من خلال تدمير الخلايا بمختلف أنواعها ومنها الخلايا الجنسية الذكرية أو الأنثوية وبالتـالي فقـدان الخصوبة المتواجدة فيها اذ تسبب خللاً في وظيفة الحيوانات المنوية بالنسبة للذكور والبويضة بالنسبة للإناث والذي يزيد حالة التأكسد هو احتواء أغشية هذه الخلايا على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المـشبعة وهي حساسة لمركبات الأكسدة عند توفرها في المحيط الذي يسبب الأذى مـن خـلال عمليـة بيروكـسدة الدهـون Lipid peroxidation وهذه الأكسدة يمكن أن تقود إلى تغييرات هيكلية ووظيفية لخلايا البويـضة والحيوانات المنوية (Agarwal and Prabakaran, 2005 ; Fraczek *et al*., 2001).

تضمنت أهداف البحث نقاط عدة وهي كالأتي: دراسة مستويات مضادات الأكسدة والأكسدة والتي بلغت (17) متغيراً لمعرفة حالة الكرب التأكسدي لدى العقيمات بنوعيه الأولي والثانوي فضلا عن معرفة تأثير زيادة الوزن عن طريق قيمة منسب كتلة الجسم Body mass index (BMI) على درجة حالة الكرب التأكسدي لدى العقيمات.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات وطرائق القياس:

جمعت خلال هذه الدراسة (223) عينة دم، ودونت المعلومات الخاصة بكل عينة في استمارة استبيان معدة لهذا الغرض، والتي شملت (44) عينة دم لإناث أصحاء (سليمات ظاهرياً) وكذلك (179) عينة دم لنساء عقيمات التي أخذت من مستشفى الخنساء التعليمي في مدينة الموصل وبأشراف أطباء متخصصين. إذ قسمت إلى مجموعتين اعتمادا على نوعية العقم (أولي أو ثانوي) فضلا عن ذلك قسمت النساء العقيمات اعتمادا على قيمة BMI، إذ تم سحب الدم من العقيمات والنساء الصحيحات بحجم بين (8-10 مل)، بعدها

وضعت كل عينة من الدم في أنبوب بلاستيكي Plain tube جاف ونظيف وذي غطاء محكم وترك في درجة حرارة (25 °C) إلى حين تخثره، ومن ثم وضع في جهاز الطرد المركزي Centrifuge لمدة 15 دقيقة وبسرعة (4000 x g) بعدها سحب مصل الدم بوساطة ماصة دقيقة Micropipette وقسم إلى جزئيين في أنابيب جافة ونظيفة وحفظ في المجمدة لحين استخدامه مرةً أخرى (Burtis and Ashoowed, 1999)، إذ استخدم مصل الدم لأجراء اختبارات مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة المختلفة وباستخدام طرائق القياس المشار أليها في الجدول (1).

الجدول **1:** طرائق القياس المستخدمة لقياس المتغيرات في البحث.

المتغيرات المقاسة	الطرائق المستخدمة	المصدر
فيتامين C	Oxidized method	Stanley *et al*., 1979
فيتامين E	Emmeric – Engle reaction	Varley *et al*., 1980
*إنزيم كلوتاثايون بيروكسيديز GPx	Oxidized method	Rotruck *et al*., 1984
**إنزيم كلوتاثايون S-ترانسفيريز(GST)	1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB) conjugation with glutathione	Habig *et al*., 1974
***إنزيم سوبراوكسيد ديسميوتيز(SOD)	Modified photochemical nitroblue tetrazolum (NBT)	Brown and Goldstein, 1983
الكلوتاثايون	Modified procedure utilizing Ellmans reagent	Sedlak and Lindsay, 1968
البليروبين الكلي	Diazo method	Walters and Gerarde, 1970
حامض الفوليك	Microbiological measurement	Lakshmaiah and Ramasastri, 1975
الألبومين	Bromocresol green method	Doumas *et al*., 1971
الكالسيوم	o – Cresolphthalein method	Moorehead and Briggs, 1974
الخارصين	Atomic absorption spectrophotometer	D'Haese *et al*., 1992
النحاس		
الحديد	Colorimetric method	Hennesy *et al*., 1984
حامض اليوريك	Tungsten blue	Burtis and Ashoowed, 1999
السيرولوبلازمين	Oxidized method	Sunderman and Nomato, 1970
مالونداياالديهايد	Thiobarbituric acid Modified procedure	Guidet and Shah, 1989
بيروكسي نيتريت	Nitration of phenol method	Vanuffelen *et al*., 1998

تم تحديد منسب كتلة الجسم Body Mass Index (BMI) باستخدام المعادلة:

الوزن (كغم) / الطول^2(متر^2)(Al-Abbad and Al-Sowielem, 1998) .

*فعالية إنزيم كلوتاثايون بيروكسيديز GPx

** فعالية إنزيم كلوتاثايون S-ترانسفيريز(GST)

*** فعالية إنزيم سوبراوكسيد ديسميوتيز(SOD)

كما استخدمت عدة قياسية جاهزة Standard kits من شركة BIOLABO الفرنسية لقياس المتغيرات الآتية: الألبومين، الكالسيوم، الحديد والبليروبين الكلي أما بقية المتغيرات الأخرى فقد استخدمت طريق يدوية Manual methods لقياسها.

التحليل الإحصائي

استخدام البرنامج الإحصائي SPSS 10 لتحديد المعدل Mean والانحراف القياسي للمعدل Standard Deviation (SD) ، وتم استخدام اختبار t (t-test) للمقارنة بين متغيرين وإيجاد الاختلاف بين القيم التي ظهرت من خلال قيمة الاحتمالية p (p-value) والتي عدت عند ($p \leq 0.05$) اختلافاً معنوياً Significant وعند ($p > 0.05$) اختلافاً غير معنوي واختبار دنكن Duncan's test للمقارنة بين أكثر من متغيرين وإيجاد الاختلاف من خلال قيمة الاحتمالية (Indrayan and Sarmukaddam, 2001).

النتائج والمناقشة

1. مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة للعقيمات من النوع الأولي والثانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة:

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (2) إلى وجود انخفاض معنوي لدى عقيمات النوع الأولي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة للمتغيرات: فيتامين C، فيتامين E، الكلوتاثايون، البليروبين الكلي، حامض الفوليك والخارصين، وارتفاع معنوي للمتغيرات: إنزيم GST، الألبومين، النحاس، الحديد، السيرولوبلازمين، المالوندايالديهايد وبيروكسي نيتريت والذي يطابق لما وجده الباحثون:

(Herrera and Barbas, 2001 ; Patel *et al*., 2002 ; Szymanski and Kazdepka-Zieminska, 2003; Zuelke *et al*., 2003 ; Luberda, 2005 ; Mehendale *et al*., 2009).

أن الانخفاض المعنوي في تركيزي فيتامين E و C للعقيمات من النوع الأولي مقارنة مع مجموعة السيطرة يؤكدان حدوث الكرب التأكسدي لديهم، إذ يعد فيتامين E من مضادات الأكسدة في الوسط الدهني الذي يعمل على حماية الأحماض الدهنية الطويلة السلسلة غير المشبعة من التحطيم ألتأكسدي عن طريق منح ذرة الهيدروجـين إلى جذر البيروكسـي ألدهنـي Lipid peroxy radical أو جذر الكوكسـي الدهني Lipid alkoxy radical وهذا يعود إلى طبيعة الفيتامين محبة للدهون Lipophilic، كما هو معروف إن فيتامين E ينتقل الى الأنسجة التي يحدث فيها الكرب ألتأكسدي (خاصة جدار الخلية) ومن ثم نقصان في تركيز فيتامين E يشير إلى الإجهاد المتزايد على إناث العقم الأولي والذي يستدعى استهلاك كميات من مضادات الأكسدة ومنها فيتامين E في الطور الدهني (Herrera and Barbas, 2001)، إما فيتامين C فأنه يعد من مضادات الأكسدة المحبة للماء والذي يعمل مع فيتامين E في إزالة الأكسدة الناتجة من خلال القابلية على إعادة فعالية فيتامين E المؤكسد فضلا عن كونه يعمل على منع الجذور الحرة مثل السوبر اوكسيد وجذر الهيدروكسيل من بدء عملية بيروكسدة الدهن أو التفاعلات التأكسدية المختلفة التي يمكن أن تحدث على

المركبات الحيوية داخل جسم أو توليد الجذور الحرة (Flohe, 2009) فانخفاض كل من الفيتامينات ألمذكورة سابقاً أشارة واضحة على استهلاكهما من قبل مركبات الأكسدة المختلفة داخل أجسام العقيمات.

الجدول 2: مستويات الأكسدة و مضادات العقم الأولي من الإناث مقارنة مع مجموعة السيطرة.

المتغيرات المقاسة	مجموعة السيطرة (العدد = 44)		مجموعة العقم الأولي (العدد = 114)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
العمر(سنة)	28.20	5.75	27.29	7.45	0.913
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.43	0.06	0.31	0.009	0.01*
فيتامين E (ملغم/100مل)	0.51	0.15	0.42	0.19	0.001*
كلوتاثايون بيروكسديز (وحدة عالمية/لتر)	0.94	0.006	0.97	0.006	0.233
كلوتاثايون S- ترانسفيريز(وحدة عالمية/لتر)	54.22	10.49	116.5	18.10	0.006*
إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.019	0.003	0.019	0.007	0.614
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	10.68	1.55	9.66	1.09	0.003*
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.67	0.16	0.59	0.06	0.044*
حامض الفوليك (نانوغرام/مل)	4.30	0.48	2.016	0.04	0.039*
ألبومين (غم/100مل)	3.92	0.69	4.45	0.8	0.007*
الكالسيوم (ملغم/100مل)	9.52	1.86	9.26	1.16	0.180
الخارصين (مايكروغرام/مل)	0.27	0.007	0.16	0.08	0.001*
النحاس (مايكروغرام/مل)	0.21	0.003	0.23	0.099	0.002*
الحديد (مايكروغرام/100مل)	139.67	32.58	230.5	40.8	0.0001**
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	6.37	1.04	5.40	1.01	0.928
السيرولوبلازمين (ملغم/لتر)	148.84	22.38	360.78	46.07	0.0001*
المالونداياالديهايد (مايكرومول/لتر)	3.30	0.13	6.31	0.24	0.001*
البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)	60.76	13.67	75.53	10.65	0.028*

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p < 0.001$

أشارت النتائج أيضا إلى الانخفاض المعنوي في تركيز البليروبين الكلي للعقيمات والذي يعزى ذلك إلى استهلاكه داخل الجسم لإزالة الأكسدة كونه من المضادات الأكسدة الداخلية التي لها القابلية على تثبيط بيروكسدة الدهن والإزالة المباشرة للجذور الحرة المختلفة الناتجة من الأكسدة والكرب التأكسدي الحاصل (Rizzo *et al*., 2010 ; Walter *et al*., 2006).

فضلاً عن ذلك لوحظ انخفاض معنوي في تركيز حامض الفوليك الذي قد يعود سببه إلى استهلاكه في عملية تكوين البويضة ونضجها وحماية الـ DNA من الأكسدة الحاصلة على الخلايا ومن ضمنها خلايا البويضة (Szymanski and Kazdepka-Zieminska, 2003) وكذلك قد يعود إلى استهلاكه أيضا بوصفه مضاداً للأكسدة وذلك لقدرته على إزالة الجذور الحرة بشكلها المباشر وغير المباشر إذ يعمل 5- مثيل رباعي هيدروفوليت 5-methyl-THF (احد أشكال حامض الفوليك الفعالة) على إزالة جذر السوبراوكسايد وجذر الثايول Thial radical (RS·) اللذان يمكن أن يشاركان في عملية بيروكسدة الدهن، ومن جانب أخر أيضا مشاركته في تكوين الأحماض النووية الـ DNA وRNA وبالتالي فهو يلعب دورا مهماً في تكوين الخلايا وخاصة البويضة لدى العقيمات (Ebisch *et al*., 2007; Joshi *et al*., 2001).

يلاحظ من الجدول (2) وجود ارتفاع معنوي في فعالية الإنزيم GST للإناث العقيمات من النوع الأولي مقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد يعزى السبب إلى زيادة الأكسدة بكميات كبيرة التي تحدث على أغلفة خلايا الجسم من ضمنها خلايا البويضة مؤدياً إلى زيادة إنتاج المركبات الضارة الناتجة من أكسدة الدهون او البروتينات او الأحماض النووية ومن ثم زيادة فعالية الإنزيم في إزالة المركبات السامة داخل الجسم عن طريق الإنزيم GST والذي يسمى أيضا الإنزيم المزيل للسمية Detoxification enzyme (Fruth *et al*., 2011). ويلاحظ أيضا انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثايون في العقيمات نتيجة استخدامه في إنزيمات GST و GPx ومشاركته في إزالة الأكسدة بشكل مباشر عن طريق مجموعة الثايول التي تحتويه في تركيبها، إذ يعمل على حماية المكونات الخلوية في خلايا البويضة من الجذور الحرة بوصفه مانحا للإلكترون عن طريق مجموعة الثايول وقد يحدث التفاعل ذاتيا (مثل تفاعله مباشرة مع جذر الهيدروكسيد أو بيروكسيد الهيدروجين) (Luberda, 2005 ; Zuelke *et al*., 2003).

علاوة على ذلك فقد لوحظ ارتفاع معنوي في تركيز الألبومين نتيجة استخدامه بوصفه مضاد أكسدة في اقتناص العديد من العناصر المعدنية التي تدخل في عملية تكوين الأكسدة داخل الجسم مثل الحديد الحر والنحاس الحر والتي أشارت النتائج (الجدول 2) إلى حصول ارتفاع معنوي في تركيزهما (الحديد والنحاس) (Das *et al*., 2003). إذ أن زيادة الحديد الحر داخل الجسم يؤدي ذلك إلى حدوث الكرب التأكسدي في الغشاء المخاطي المعوي والكبد والطحال وغيرها من الأنسجة (Casanueva and Viteri, 2003).

أما النحاس الحر فيشارك هو أيضا في تفاعلات الأكسدة التي تحرر الجذور الحرة والتي تعكس سلبيا على أداء ووظيفة الخلية نتيجة مشاركته في عملية الأكسدة على الخلايا في تفاعل فينتون Fenton reactions وتفاعلات هابر- ويس Haber-Weiss reactions (Karpinska and Jakoniuk, 2001) وبالتالي فأن

النحاس والحديد من المعادن النشيطة يمكن أن تشارك في تفاعلات انتقال الالكترونات لإنتاج أصناف الأوكسجين الفعالة التي لها القدرة على أكسدة لمكونات الخلايا و يمكن أن يحفزا تشكيل جذور حرة مختلفة التي تعمل على أكسدة الدهون عبر بيروكسدة الدهون وأكسدة البروتينات في الخلايا وان مشاركة الجسم في زيادة تكوين الالبومين لتقليل من تواجد العناصر المعدنية بشكل حر (Oteiza *et al.*, 1995).

وأشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في تركيز السيرولوبلازمين (Cp) لدى عقيمات النوع الأولي وقد يعزى السبب إلى دورهِ في عملية تحويل ايون الحديدوز Fe^{+2} المرتبط بالترانسفيرين Transferrin إلى أيون الحديديك Fe^{+3} المرتبط بالفرتين Ferritin قبل أن يشارك في عملية الأكسدة في الجسم، فضلا عن كون السيرولوبلازمين من البروتينات التي تعمل على الارتباط بالنحاس وجعله بشكل غير حر وعندها لا يمكن أن يشارك في عملية الأكسدة وبهذه الصفة يجعله أيضا من مضادات الأكسدة التي تمنع حصول الأكسدة والتقليل من الجذور الحرة المتكونة داخل الجسم فيزداد السيرولوبلازمين لمشاركته في عملية اقتناص النحاس الحر الذي يمكن أن يشارك في عملية الأكسدة (Sirajwala *et al.*, 2007 ; Patel *et al.*, 2002).

فضلا عن ذلك، لوحظ ارتفاع معنوي في تركيز المالوندايالديهايد MDA الناتج من زيادة عملية بيروكسدة الدهن للأحماض الدهنية غير المشبعة للخلايا المختلفة من ضمنها خلايا البويضة نتيجة زيادة أصناف الأوكسجين والنيتروجين الفعالة بأنواعها المختلفة وان هذه الزيادة تعطي مؤشراً واضحاً على حدوث حالة الكرب التأكسدي لدى الإناث العقيمات من النوع الأولي كون قيمة MDA تعد إحدى المؤشرات على حدوث الأكسدة داخل الجسم الناتجة من عملية بيروكسدة الدهن للأحماض الدهنية(Yildirim *et al.*, 2007; Mehendale *et al.*, 2009).

أشارت النتائج أيضا إلى الارتفاع المعنوي لتركيز بيروكسي نيتريت وقد يعود السبب في الارتفاع إلى وجود زيادة في إنتاج جذر السوبر اوكسايد السالب نتيجة الكرب التاكسدي الحاصل لدى الإناث العقيمات إذ أن البيروكسي نيتريت يتكون نتيجة تفاعل جذر اوكسيد النيتريك $NO^{\cdot}$ (Nitric oxide radical) مع جذر السوبر اوكسايد السالب كون هناك زيادة تكون اوكسيد النيتريك لدى الإناث العقيمات بكميات كبيرة كما أثبته الباحثون (Pressman *et al.*, 2003)، إذ أن بيروكسي نيتريت يمكن أن يعمل على مهاجمة أغشية الخلايا المتمثلة بالدهون والبروتينات والأحماض النووية مما يؤدي إلى أضرار في الخلايا المختلفة وتزايد حالة الكرب التأكسدي (Denicola and Radi, 2005).

كما أشارت النتائج الموضحة في الجدول (3) إلى وجود انخفاض معنوي لدى العقيمات من النوع الثانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة للمتغيرات: فيتامين C، فيتامين E، الكلوتاثايون، البليروبين الكلي، حامض الفوليك، الخارصين والنحاس وارتفاع معنوي للمتغيرات:إنزيم GPx، إنزيم GST، السيرولوبلازمين، MDA وبيروكسي نيتريت. وهذا يطابق لما وجده الباحثون:

(Chandra *et al.*, 2000 ; Joshi *et al.*, 2001 ; Manju *et al.*, 2002 ; Dinger *et al.*, 2005 ; Ebisch *et al.*, 2007; Yildirim *et al.*, 2007).

إن الانخفاض المعنوي في تركيزي فيتامين E وC والكلوتاثايون والبليروبين الكلي وحامض الفوليك للعقيمات من النوع الثانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة يؤكدان حدوث الكرب التأكسدي لدى العقيمات مـن النوع الثانوي وان انخفاضهم نتيجة مشاركتهم بوصفها مضادات أكسدة ضد الأكسدة الحاصلة الناتجة كما ذكر سابقا.

الجدول 3 : مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة للعقيمات من النوع الثانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة.

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p\leq0.05$

** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p<0.001$

المتغيرات المقاسة	مجموعة السيطرة (العدد = 44)		مجموعة العقم الثانوي (العدد = 65)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
العمر(سنة)	28.20	5.75	30.18	6.12	0.511
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.43	0.06	0.21	0.03	*0.01
فيتامين E (ملغم/100مل)	0.51	0.15	0.38	0.14	*0.002
كلوتاثايون بيروكسديز(وحدة عالمية/لتر)	0.94	0.006	0.96	0.077	*0.002
كلوتاثايون S- ترانسفيريز(وحدة عالمية/لتر)	54.22	10.49	134.44	21.64	0.0001**
إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.019	0.003	0.018	0.006	0.68
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	10.68	1.55	7.87	1.44	*0.042
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.67	0.16	0.48	0.11	*0.03
حامض الفوليك (نانوغرام/مل)	4.30	0.48	1.55	0.09	0.002*
ألبومين (غم/100مل)	3.92	0.69	4.41	0.88	0.849
الكالسيوم (ملغم/100مل)	9.52	1.86	9.40	0.61	0.853
الخارصين (مايكروغرام/مل)	0.27	0.007	0.15	0.005	**0.0001
النحاس (مايكروغرام/مل)	0.21	0.003	0.2	0.042	*0.001
الحديد (مايكروغرام/100مل)	139.67	32.58	140.07	42.22	0.37
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	6.37	1.04	6.22	1.83	0.562
السيرولوبلازمين (ملغم/لتر)	148.84	22.38	139.0	14.0	0.0001**
المالونداياالديهايد (مايكرومول/لتر)	3.30	0.63	7.95	0.65	*0.005
البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)	60.76	11.67	80.87	9.67	*0.033

وأشارت النتائج إلى الارتفاع المعنوي في فعالية إنزيم GPx للعقيمات من النوع الثانوي قد يعزى ذلـك إلى زيادة الأكسدة بكميات كبيرة داخل الجسم مؤدياً إلى زيادة إنتاج المركبات الضارة الناتجـة مـن أكـسدة

الدهون او البروتينات ومن ثم زيادة فعالية الإنزيم لإزالة هذه المركبات، والذي يؤكد ذلك فقد لـوحظ أيـضا انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثايون المختزل (الجدول 3) نتيجة استخدامه في إنزيم GPx فـضلا عـن استخدامه كمضاد أكسدة في اتجاهات أخرى داخل الجسم، وبالتالي فأن الحث الزائد في فعالية الإنزيم تكـون راجعة لمواجهة التأثيرات الناتجة عن زيادة الأكسدة (Chandra *et al*., 2000).

2. مقارنة مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة للعقيمات من النوع الأولي مع العقيمات من النوع الثانوي:

أشارت النتائج الموضحة في الجدول رقم (4) إلى وجود ارتفاع معنوي لدى العقيمـات مـن النـوع الأولي مقارنة مع العقيمات من النوع الثانوي للمتغيرات: فيتامين C، الكلوتاثايون، البليروبين الكلي، حامض الفوليك والحديد وانخفاض معنوي للمتغيرات: إنزيم كلوتاثايون S- ترانسفريز وبيروكـسي نيتريـت وهـذا يطابق لما وجده الباحثون:

(Zuelke *et al*., 1997 ; Arteaga *et al*., 1998 ; Tarin *et al*., 1998 ; Tarin *et al*., 2000 ; Seino *et al*., 2002 ; Hemachand and Shaha, 2003).

الارتفاع المعنوي في مستوى تراكيز مضادات الأكسدة لكل من: فيتامين C، الكلوتاثايون، البليـروبين الكلي وحامض الفوليك للعقيمات من النوع الأولي عند مقارنتها مع العقيمات من النوع الثانوي يؤكد زيـادة حدوث الكرب التأكسدي في العقيمات نوع الثانوي بشكل اكبر من العقيمات من النوع الأولي، إذ كمـا هـو معلوم أن تلك المضادات للأكسدة المذكورة أعلاه تعمل على إزالة أصناف الأكسدة المختلفة داخل الجسم وان ارتفاعها في العقيمات نوع الأولي إشارة واضحة على كون الأكسدة لديهم اقل مما في العقيمات مـن النـوع الثانوي والتي قد ترجع لعوامل عدة منها قد يكون للعمر تأثير مستوى مضادات الأكسدة إذ لوحظ إن هنـاك ارتفاعاً معنوياً في العمر (الجدول 4)، إذ أن لزيادة العمر تأثيراً على تكوين البويضة والتشوهات التي تحدث لها اذ يحدث فقدان أو انخفاض في فعالية هورمون الاستروجين والذي يكون لـه تـأثير مـضاد للأكـسدة (Tamir *et al*., 2002 ; Tarin *et al*., 2000 ; Arteaga *et al*., 1998). وكذلك فمن ملاحظة أسباب العقم لدى الإناث التي تختلف باختلاف أنواعها فالعقم الأولي تعود أسبابه عادة لإمراض هرمونية أو لعدم نـضج الأعضاء التناسلية لأسباب خلقية أما العقم الثانوي فقد يحدث بسبب مـضاعفات الـولادة أو الإجهـاض أو الالتهابات التي قد تصيب الرحم وقناتي فالوب وبالتالي فزيادة هذه الحالات السابقة للعقيمـات مـن النـوع الثانوي يمكن أن تعمل على زيادة مركبات الأكسدة لديهم نتيجة الالتهابات المستمرة إذ تحفز هذه الالتهابـات على زيادة الوسائل الدفاعية من قبل كريات الدم البيض والتي تستخدم تفاعلات تكـوين مركبـات الأكـسدة للقضاء عن الأجسام الغريبة الناتجة من الالتهابات وبالتالي زيادة مركبات الأكسدة لديهم بكميات أعلى مما في النوع الأولي فتقل عندها مستويات مضادات الأكسدة لديهم (Banerjee *et al*., 2008).

لوحظ أيضا وجود ارتفاع معنوي في فعالية الإنزيم GST للإناث العقيمات النوع الثانوي مقارنة مـع العقيمات النوع الأولي، وقد يعزى السبب إلى زيادة الأكسدة بكميات كبيرة داخل أجسام العقيمات نوع الثانوي

تؤدي إلى زيادة إنتاج المركبات الضارة الناتجة من أكسدة الدهون أو البروتينات في أغلفه الخلايا ومـن ثـم زيـادة فعاليـة الإنـزيم فـي إزالـة المركبـات الـسامة داخـل الجـسم عـن طريـق الإنـزيم GST فضلا عن كـون الإنـزيم أيـضا يـشارك كمـضاد للأكـسدة فـي إزالـة الأكـسدة الحاصـلة لـديهم (Huber *et al*., 2008; Hemachand and Shaha, 2003).

الجدول 4: مقارنة مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة للعقيمات من النوع الأولي مع العقيمات من النوع الثانوي.

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p \leq 0.05$ ** فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p<0.001$

وكذلك لوحظ ارتفاع معنوي في بيروكسي نيتريت لدى الإناث العقيمات النوع الثـانوي عـن النـوع الأولي بكميات كبيرة نتيجة زيادة في إنتاج جذر السوبر اوكسايد السالب احد أصـناف الأوكـسجين الفعالـة

المتغيرات المقاسة	مجموعة العقم الأولي (العدد = 114)		مجموعة العقم الثانوي (العدد = 65)		قيمة الاحتمالية (p)
	المعدل	الانحراف القياسي	المعدل	الانحراف القياسي	
العمر(سنة)	27.29	7.45	30.18	6.12	**0.0001
فيتامين C (ملغم/100مل)	0.31	0.009	0.21	0.03	**0.0001
فيتامين E (ملغم/100مل)	0.42	0.19	0.38	0.14	0.099
كلوتاثايون بيروكسديز(وحدة عالمية/لتر)	0.97	0.006	0.96	0.077	0.879
كلوتاثايون S- ترانسفيريز(وحدة عالمية/لتر)	116.56	18.10	134.44	21.64	* 0.019
إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز	0.019	0.007	0.018	0.006	0.248
الكلوتاثايون(مايكرومول/لتر)	9.66	1.09	7.87	1.44	*0.033
البليروبين الكلي (ملغم/100مل)	0.79	0.06	0.48	0.11	*0.043
حامض الفوليك (نانوغرام/مل)	2.016	0.04	1.55	0.09	*0.049
ألبومين (غم/100مل)	4.45	0.8	4.41	0.88	0.702
الكالسيوم (ملغم/100مل)	9.26	1.16	9.40	0.61	0.551
الخارصين (مايكروغرام/مل)	0.16	0.08	0.15	0.005	0.417
النحاس (مايكروغرام/مل)	0.23	0.099	0.2	0.042	0.526
الحديد (مايكروغرام/100مل)	230.5	40.8	140.07	42.22	*0.029
حامض اليوريك (ملغم/100مل)	5.40	1.01	6.22	1.83	0.291
السيرولوبلازمين (ملغم/لتر)	360.78	70.46	0.139	0.14	0.569
المالونداياالديهايد (مايكرومول/لتر)	6.31	0.24	7.95	0.65	0.83
البيروكسي نيتريت (مايكرومول/لتر)	75.53	10.65	80.87	9.67	*0.044

وتفاعله مع اوكسيد النيتريك والذي يؤدي الى زيادة تكون بيروكسي نيتريت بكميات عالية تؤدي بالنتيجة إلى مهاجمة مكونات الخلية من دهون وأحماض نووية وبروتينات وغيرها (Seino *et al*., 2002).

3. مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لدى العقيمات من النوع الأولي بالاعتماد على قيمة منـسب كتلـة الجسم Body mass index (BMI):

قسمت العينات للعقيمات من النوع الأولي إلى خمسة أصناف استنادا لقيمة منسب كتلة الجـسم (BMI) لدراسة تأثير وزن الجسم للعقيمات على مستويات الأكسدة ومضادات الأكسدة لديهم وحسب تصنيف منظمـة الصحة العالمية (Inoue and Zimmet, 2000) (الجدول رقم 5). إذ أشارت النتائج الموضحة الـى وجـود انخفاض معنوي لدى العقيمات من النوع الأولي مع زيادة منسب كتلة الجسم (BMI) مقارنة مع مجموعـة السيطرة للمتغيرات: فيتامين C، فيتامين E، إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز، البليـروبين الكلـي، حـامض الفوليك، الخارصين وحامض اليوريك، وارتفاع معنوي للمتغيرات: إنزيم كلوتاثايون S- ترانسفريز، الحديد، السيرولوبلازمين، المالونداي‌الديهايد والبيروكسي نيتريت وهذا يطابق لما وجده البـاحثون: (Sarwer *et al*., 2006 ; Barber *et al*., 2006 ; Roberts *et al*., 2008).

أن الانخفاض المعنوي في تركيز فيتامين E وفيتامين C لدى العقيمات مع زيادة قيمة منـسب كتلـة الجسم في مصل دم الأشخاص ذوي السمنة يؤكد زيادة الأكسدة لديهم نتيجة تراكم الدهون والإجهـاد العـالي الذي يمكن ان يعمل على زيادة حصول الأكسدة إذ إن انخفاض الفيتامينات دلالة علـى اسـتهلاكهما ضـد مركبات الأكسدة من خلال عملهما معاً على إزالة الجذور الحرة مثل ($O_2^{\cdot-}$ ، $OH^{\cdot}$ ، H_2O_2) ويساعدان على حماية الخلايا ويقللان من تلف الأنسجة (Johnston *et al*., 2006).

أما الانخفاض المعنوي في فعالية الإنزيم SOD لدى العقيمات مع زيادة منسب كتلة الجسم قد يعود إلى الأكسدة الحاصلة نتيجة بيروكسيدة الدهون الموجودة بكميات عالية للأشخاص ذوي السمنة المفرطة وإنتاج مركبات ضارة أو يكون غير فعال بشكل كافٍ لإزالة جذر سوبر اوكسايد السالب نتيجة للانخفاض المعنوي في مستوى الخارصين (الجدول رقم 5) إذ يتم استخدام عنصر الخارصين بكميات كبيرة مرافقاً إنزيمياً لإنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز SOD الذي يبدي فعاليته بوجود العناصر المعدنية (الخارصين والنحاس والمنغنيز) وبالتالي استخدامهم في إزالة جذر سوبر اوكسيد السالب Superoxide anion radical وتحويله الى بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide الذي يعد هو أيضا من المركبات المؤكسدة غير الحاوية على الجذور الحرة (López-Tinoco *et al*., 2011).

لوحظ أيضا انخفاض معنوي في تركيز البيليروبين الكلي و حامض اليوريك لدى العقيمات مع زيـادة قيمة منسب كتلة الجسم دلالة واضحة على حصول حالات من الأكسدة الخلوية بازدياد وزن الجسم والتي من خلالها أدت إلى زيادة استهلاك الوسائل الدفاعية من المضادات الأكسدة الداخلية وكذلك إلى التقليل من حالات

الأكسدة الحاصلة بكميات عالية وخاصة في فئة الأوزان العالية في الأشخاص ذو الـسمنة المفرطـة، إذ أن مضادات الأكسدة المتوفرة داخل الجسم عن طريق المصادر الخارجية (الغذاء) أو المصادر الداخليـة (عـن طريق التكوين الحياتي داخل الجسم مثل البيليروبين الكلي و حامض اليوريك) غير كافية لمنع كمية الأكـسدة الحاصلة في الجسم وبالتالي فأن زيادة الوزن يكون ذا تأثير سلبي على الخصوبة نتيجـة زيـادة الأكـسدة (Andreadou *et al.*, 2009).

لوحظ أيضا انخفاض معنوي في تركيز حامض الفوليك لدى العقيمات مع زيادة منسب كتلـة الجـسم حامض الفوليك قد يعود إلى استهلاكه لبناء التراكيب الخلوية وإصلاحها نتيجة الأكسدة فضلاً عن دوره مانعاً للأكسدة اذ يعمل على كبح الجذور الحرة الناتجة من الإجهاد العالي الذي تعانيـه البـدينات وخاصـة مـن العقيمات منهم ومن ثم تـزداد اسـتهلاكها مـن حـامض الفوليـك وعنـدها تقـل كميتـه فـي الجـسم (Tungtrongchitr *et al.*, 2003).

أشارت النتائج أيضا إلى وجود ارتفاع معنوي في تركيز الألبومين وتركيـز الـسيرولوبلازمين (Cp) لدى العقيمات مع زيادة منسب كتلة الجسم الذي يعود السبب إلى استخدامهما بوصفه مـضاداً للأكـسدة فـي اقتناص العديد من العناصر المعدنية التي تدخل في عملية تكوين الأكسدة داخل الجسم مثـل الحديـد الحـر والنحاس الحر كما أشارت النتائج الى وجود ارتفاع معنوي في تركيز عنصر الحديد وبالتـالي يـؤدي إلـى ارتفاع في الألبومين من اجل اقتناص هذا العنصر(Kazanis *et al.*, 2011 ; Kim *et al.*, 2011).

فضلا عن ذلك لوحظت زيادة معنوية المالونداياالديهايد (MDA) للعقيمات مع زيادة قيمة منسب كتلة الجسم وقد يعزى السبب الى إن التعب والإجهاد الناتج عن الأشخاص ذوي السمنة (وخاصة السمنة المفرطة) يؤدي إلى زيادة استهلاك الأوكسجين لإجراء العمليات الأيضية المختلفة وإنتاج الطاقة، وخاصةً في الأنسجة الدهنية وحصول بيروكسدة الدهون Lipid peroxidation في الأشخاص ذوي السمنة المفرطة احتمالية عالية جدا والذي أكده الباحثون (الهلالي وآخرون، 2011) وخصوصاً عند توفر العوامل الأولية لبدء الأكسدة Pro-oxidants المتكونة خلال أي عمل إجهادي عضلي للجسم، ونتيجة لانخفاض مضادات الأكسدة المختلفة مما يؤدي الى زيادة الأكسدة فيؤدي إلى زيادة تركيز المالونداياالديهايد الناتج من عملية أكسدة الدهون في مواقع مختلفة للخلايا (Liu *et al.*, 2011 ; Pipek *et al.*, 1996).

وأشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في تركيز البيروكسي نيتريت لدى العقيمات مع زيادة منسب كتلة الجسم دلالة واضحة على زيادة بيروكسدة الدهون داخل أجسام الأشخاص ذوي السمنة وخاصةً ذوي السمنة المفرطة (قيمة BMI = 35 - 39.9) منهم الذين يكثر في أجسامهم طبقات من الدهون المخزونة تحت الجلد أو حول الأعضاء المختلفة في الجسم وبالتالي يؤدي إلى زيادة أصناف النيتروجين الفعالة من ضمنها اوكسيد نيتريك اذ ان تفاعل جذر السوبر اوكسيد مع جذر اوكسيد النيتريك والذي يكون أسرع بثلاثة

أضعاف من تفاعل السوبر اوكسيد مع إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز SOD إذ يتنافس جذر اوكسيد نيتريك مع إنزيم سوبر اوكسيد ديسميوتيز على التفاعل مع السوبر اوكسيد والذي يؤدي بعد ذلك إلى زيادة تكوين بيروكسي نيتريت المسؤول عن حدوث بعض التهابات وزيادة التحوير لبعض الأحماض الامينية في البروتينات مثل نيترة التايروسين (Roberts *et al*., 2008).

فضلا عن ذلك فأن زيادة الوزن والسمنة (البدانة) نتيجة زيادة كمية الأنسجة الدهنية له تأثيره على الخصوبة إذ أشارات الأبحاث أن ذلك يمكن أن يؤثر على مستوى الهورمونات الجنسية نظرا لقدرتها على تخزين الستيرويدات التي تعد المادة الأساس للهورمونات الجنسية مثل الأندروجينات وبالتالي عند زيادة هذه الهورمونات تؤثر على عمل المبايض وكذلك ضعف الخصوبة وحدوث العقم (Sarwer *et al*., 2006)، علاوة على ذلك فأن السمنة هي أيضا كثيرا ما ترتبط مع زيادة إنتاج الأنسولين ومقاومة الأنسولين، ويعتقد أن هذين العاملين لهم دور في فرط الأندروجينية في البدانة لأن الأنسولين مهم لتنظيم إنتاج الهورمونات الجنسية، ويمكن ملاحظة هذا في النساء البدينات مع متلازمة تكيس المبيض اذ اكتساب الوزن الزائد يؤدي إلى الإفراط في إنتاج الأنسولين وتعزيز إفراز الاندروجين زيادة غير طبيعية في الحويصلات والمبيض وهو ما يؤدي إلى اختلال عام في نشاط المبيض مما يسبب مشاكل في الخصوبة (Barber *et al*., 2006)، ومن جانب أخر فأن زيادة الأنسجة الدهنية تسبب زيادة عالية في إنتاج كميات عالية من مركبات الأكسدة الناتجة من عملية بيروكسيدة الدهن نتيجة تراكم الدهون لديهم بكميات عالية وعندها زيادة المركبات الضارة داخل الجسم والتي تزداد بذلك فعالية إنزيم GST (الذي لوحظ فيه ارتفاع معنوي كما في الجدول 5) لاستخدامه في إزالة المركبات الضارة وعمله أيضا بوصفه مضاد أكسدة، إذ بقاء هذه المركبات تسبب تفاعلات تحويرية ضد المركبات الكيمياء الحياتية من بروتينات أو الأحماض النووية أو حتى المركبات الدهنية في تراكيب الخلايا وهذا ما يؤثر على الجسم وفعاليته في جميع الأجهزة المختلفة ومنها الجهاز التناسلي وما يحتويه من الأعضاء المختلفة (المبيض، قناة فالوب، الرحم) وهذا يؤدي إلى التأثير على الخصوبة لدى النساء وحدوث العقم (Polak *et al*., 2001).

المصادر العربية

الهلالي، لؤي عبد؛ هادي، أيمان عادل؛ الطالب، نهى عبد القادر (2011). مستوى مضادات الأكسدة والكرب التأكسدي لذوي السمنة المفرطة (المدخنين وغير المدخنين) في مدينة الموصل. مقبول للنشر فـي مجلة التربية والعلم لسنة 2011.

المصادر الأجنبية

Abida-Malik, S. J. ; Hakim S. ; Shukla I. ; Rizvi M. (2006). *Chlamydia trachomatis* infection and female infertility. *Indian J. Med. Res.* **123**(6), 770-775.

Agarwal, A. ; Nallella, K. P. ; Allamaneni, S. S. ; Said, T. M. (2004). Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod. Biomed. Online*. **8**(6),616-627.

Agarwal, A.; Gupta, S.; Sharma, R. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*. **3**(28), 1477-7827-3-28.

Al-Abbad, F. A.; Al-Sowielem, L. S.(1998). Prevalence of obesity. *Saudi Med. J.* **19**(5),608-13.

Andreadou, E.; Nikolaou, C.; Gournaras, F.; Rentzos, M.; Boufidou, F.; Tsoutsou, A.; Zournas, C.; Zissimopoulos, V.; Vassilopoulos, D. (2009). Serum uric acid levels in patients with Parkinson's disease: their relationship to treatment and disease duration. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **111**(9),724-728.

Arteaga, E.; Villaseca, P.; Rojas, A.; Arteaga, A.; Bianchi, M. (1998). Comparison of the antioxidant effect of estriol and estradiol on low density lipoproteins in post-menopausal women. *Rev. Med. Chil.* **126**(5),481-487.

Asrm, R. M. (2004). Definition of 'infertility'. Fertility and sterility **82,** Suppl 2, S1-383.

Banerjee, R.; Becker, D.; Dickman, M.; Gladyshev, V.; Ragsdale, S. (2008). "Redox Biochemistry". John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. Canada. pp.201,209.

Barber, T.M.; McCarthy, M.I.; Wass, J. A.; Franks, S. (2006). Obesity and polycystic ovary syndrome. *Clin. Endocrinol*. (Oxf) . **65**(2),137–145.

Brown, M.S.; Faust, J.R.; Goldstein, J. L. (1975). Role of the low density lipoprotein receptor in regulating the content of free and esterified cholesterol in human fibroblasts . *J. Clin. Invest.* **55**, 783-793.

Burtis, N. R. J.; Ashwood, E. R. (1999). "Tietz Textbook of Clinical Chemistry". 3rd edn. W. B. Saunders Company, USA .pp. 490-491, 1000-1025.

Casanueva, E.; Viteri, F. E. (2003). Iron and oxidative stress in pregnancy. *Amer. Soci. Nut. Sci.*.**133**,1700S-1708S.

Chandra, R. ; Aneja, R. ; Rewal, C. ; Konduri, R. ; Dass, K.; Agarwal, S. (2000), An opium alkaloidpapaverine ameliorates ethanol induced hepatotoxicity: diminution of oxidative stress, *Ind. J . Clin. Biochem.*, **15**(2), 155-60.

Das, S. K.; Nayak, P.; Vasudevan, D. M. (2003). Biochemical markers of alcohol consumption, *Ind. J. Clin. Biochem*. **18** (2), 111- 118.

Denicola, A.; Radi, R. (2005). Peroxynitrite and drug-dependent toxicity. *Toxicology*. **208**(2), 273–288.

D'Haese, P. C.; Lamberts, L. V.; Vanheule, A. O. ; DeBroe, M. E. (1992). Direct determination of zinc in serum by zeeman atomic absorption spectrometry with a graphite furnace. *Clin. Chem*. **38**(12), 2439-2443.

Dinger, Y.; Akcay, T. ; Erdem, T. Ilker Saygili, E.; Gundogdu, S. (2005). DNA damage, DNA susceptibility to oxidation and glutathione level in women with polycystic ovary syndrome, Scandanavian Journal of Laboratory. *Investigations*, **65** (8), 721 – 728.

Doumas, BT.; Watson, W. A.; Biggs, H. G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with Bromocresol Green. *Clin. Chem. Acta*. **31**, 87-96.

Ebisch, I. M. W. ; Thomas, C. M. G. ; Peters, W. H. M. ; Braat, D. D. M.; Steegers-Theunissen, R. P. M. (2007). The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum. Repr. Upda*. **13**(2), 163–174.

Flohe, B. R. (2009). Vitamin E: the shrew waiting to be tamed. *Free Radic. Biol. Med*., **46**(5), 543-554.

Fraczek, M. ; Szkutnik, D. ; Sanocka, D. ; Kurpisz, M. (2001) Peroxidation components of sperm lipid membranes in male infertility. Ginekol Pol. **72**(2),73-79

Fruth, K. ; Best. N. ; Amro, M. ; Ingel, K. ; Gosepath, J. ; Mann, W. ; Brieger, J. (2011). No evidence for a correlation of glutathione S-tranferase polymorphisms and chronic rhinosinusitis. Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University Mainz, Germany. **49**(2),180-4.

Guidet, B. ; Shah, S. V. (1989). *Am. J. Physiol* **. 257** (26). F440 cited by Muslih, R. K.; Al-Nimer, M.S.; Al-Zamely, O.Y. (2002). The level of malondialdehyde after activation with H_2O_2 and $CuSO_4$ and inhibition by deferoxamine and Molsidomine in the serum of patient with acute Myocardial infraction. *Nat. J. Chem*. **5**,139-148.

Habig, W. H. ; Pabst, M. J. ; Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biochem*. **249**(22),7130-7139.

Han, N. M.; May, C. Y. (2010). Determination of antioxidants in oil palm leaves (elaeis guineensis). *Am. J. Applied Sci.*, **7**, 1243-1247. DOI: 10.3844/ajassp:1243.1247.

Hemachand, T. ; Shaha, C. (2003). Functional role of sperm surface glutathione S-transferases and extracellular glutathione in the haploid spermatozoa under oxidative stress. *FEBS Lett*. **538**(1-3), 14-18.

Hennesy, D. J.; Gary, R. R.; Smith, F. E. ; Thompson, S. L. (1984). Ferene: Anew spectrophotometric reagent for iron. *Can. J. Chem*. **62**, 721-724.

Herrera, E. ; Barbas, C. (2001). Vitamin E: Action, Metabolism and Perspectives. *J. Physiol. Biochem.* **57**(1), 43-56.

Huber, P.C.; Almeida, W. P.; Fatima, A. (2008). Glutathione and related enzymes: biological roles and importance in pathological processes. *Quím. Nova* . **31**, 1170-9.

Idogun, E. S.; Odiegwu, M. E.; Momoh, S. M.; Okonofua, F. E. (2008). Effect of pregnancy on total antioxidant capacity in Nigerian women. *Pak J. Med. Sci*. **24**(2), 292-295.

Indrayan, A. and Sarmukaddam, S.B., (2001). "Medical Biostatistics". Marcel Dekker, Inc, USA, pp. 299,303,405.

Inoue, S. ; Zimmet, P. (2000). "The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment". Published by Health Communications Australia Pty Limited on behalf of the Steering Committee. 17p.

Johnston, C.; Corte C.; Swan P. D. (2006). Marginal vitamin C status is associated with reduced fat oxidation during submaximal exercise in young adults *Nutr. Metab*. **31**(3), 35.

Joshi, R. ; Adhikari, S. ; Patro, B. S. ; Chattopadhyay, S.; Mukherjee, T. (2001). Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity. *Free Radic. Biol. Med.* **30**(12), 1390–1399

Karpinska, E. K.; Jakoniuk, J. M. (2001). Lead and zinc influence on antioxidant enzyme activity and malondialdehyde concentrations. *Polish. J. Envi. Stud*.**100**(3), 161-165.

Kazanis, K. ; Dalamaga, M. ; Kassi, E. ; Nounopoulos, C. ; Manolis, A. S. ; Merantzi, G. ; Jullien, G. ; Dionyssiou-Asteriou, A. (2011). Serum levels of ischemia modified albumin in overweight/obese postmenopausal women: A potential biomarker of atherosclerotic burden associated with oxidative stress. *Maturitas*. **70**(2), 182-7.

Kim, O. ; Shin, M. ; Moon, J. ; Chung, J. (2011). Plasma ceruloplasmin as a biomarker for obesity: a proteomic approach. *Clin. Biochem*. **44**(5-4),351-356.

Lakshmaiah, N. ; Ramasastri, B. V. (1975). Folic acid conjugase from plasma. III. use of the enzyme in the estimation of folate activity in foods. *Int. J . Vita. Nut. Res*. **45**(3), 262-272.

Liu, X. ; Wang, F. ; Li, Y. ; Sun, C. (2011). Oxidative stress and the susceptibility to obesity in rats. *Wei Sheng Yan Jiu*. **40**(4),420-2.

López-Tinoco, C. ; Roca, M. ; García-Valero, A. ; Murri, M. ; Tinahones, F. J. ; Segundo, C. ; Bartha, J. L. ; Aguilar-Diosdado, M. (2011). Oxidative stress and antioxidant status in patients with late-onset gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. [Epub ahead of print]

Luberda, Z. (2005). The role of glutathione in mammalian gametes. Reprod Biol .**5**(1),5–17.

Makker, K. ; Agarwal, A. ; Sharma, R. (2009). Oxidative stress and male infertility. *Indian J. Med*. **129**(4), 357-67.

Manju, V. ; Kalaivani, S. J. ; Nalini, N. (2002). Circulating lipid peroxidation and antioxidants status in cervical cancer patients: A case control study. *Clin. Biochem*. **35**(8), 621-625.

Mehendale, S. ; Kilari, B. ; Deshmukh, C. ; Dhorepatil, B. ; Nimbargi, V.; Joshi S. (2009). Oxidative stress-mediated essential polyunsaturated fatty acid alterations in female infertility. Department of Obstetrics and Gynecology, Bharati Vidyapeeth University Medical College. *Pune, India*. **12**(1), 28-30.

Moorehead, W. R., ; Biggs, H. G. (1974). 2-Amino-2-methyl-1-propanol as the alkalizing agent in an improved continuous-flow cresophthalein complexone procedure for calcium in serum. *Clin. Chem*. **20**, 1458–1460

Oteiza, P. I.; Olin, K. L.; Fraga, C. G.; Keen, C. L. (1995). Zn deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J. Nutr*. **125**(4), 823–829.

Patel, B. N. ; Dunn, R. J. ; Jeong, S. Y. ; Zhu, Q. ; Julien, J. P. ; David, S. (2002). Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *J. Neurosci*. **22**(15), 6578-86.

Pipek, R. G. ; Dankner, A. ; Ben-Amotz, M. ; Aviram Levy, Y. (1996). Increased plasma oxidizability in participants with severe obesity. *J. Nutr. Environ. Med*. **6**, 267-272.

Polak, G. ; Koziol-Montewka, M. ; Gogacz, M. ; Blaszkowska, I. ; Kotarski, J. (2001). Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. **94**(2), 261–263.

Pressman, E. K. ; Cavanaugh, J. L. ; Mingione, M. ; Norkus, E. P.; Woods J. R. (2003). Effects of maternal antioxidant supplementation on maternal and fetal antioxidant levels: a randomized, double-blind study. *Am. J. Obstet. Gynecol*. **189**(6), 1720-1725.

Pyari, J. S. ; Rekha, S. ; Singh, R. K. ; Monica, A. (2006). Free radicals in female infertility Biochemistry, King George Medical University, Lucknow **65**(1), 64-67.

Rizzo, A. M. ; Berselli, P.; Zava, S.; Montorfano, G.; Negroni M.; Corsetto P.; Berra, B. (2010). Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Adv. Exp. Med. Biol.* **698**, 52-67.

Roberts, V. H.; Smith, J.; McLea, S. A. (2008). Effect of increasing maternal body mass index on oxidative and nitrative stress in the human placenta. *Placenta.* **30**(2),169–175.

Rotruck, J. T.; Pope, A. L. ; Ganther, H. E. ; Swanson, A. B. ; Hafeman, D. G. ; Hoekstra, W. G. (1973). Selenium biochemical roles as a component of glutathione peroxidase. *Science*. **179**(73), 588-590.

Sarwer, D. B. ; Allison, K.C. ; Gibbons, L. M. ; Markowitz, J. T. ; Nelson, D. B. (2006). Pregnancy and obesity: A review and agenda for future research.. *J. Womens Health* (Larchmt). **15**(6),720-733.

Sedlak, J.; Lindsay, R. H. (1968). "Analytical Biochemistry". 192 p. ; Cited by Al-Zamyle, O. M.; Al-Nimer, M. S. ; Al-Muslih, R. K. (2001). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infarction. *Nat. J. Chem*. **4**,625-637.

Seino, T. ; Saito, H. ; Kaneko, T. ; Takahashi, T. ; Kawachiya, S. ; Kurachi, H. (2002). Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril.* **77**(6), 1184-1190.

Sirajwala, H. B. ; Dhabi, A. S. ; Malukar, N. R. ; Bhalgami, R. B. ; Pandya, T. P. (2007). Serum ceruloplasmin level as an extracellular antioxidant in acute myocardial infarction. *J. Indian Acad. Clin. Med*., **8**(2), 135-138.

Stanley, T.; David, T.; Howerds, S. (1979). "Selected Method for the Determination of Ascorbic Acid in Animal Cells, Tissues and Fluids". Method in Enzymology", vol. 62. Vitamins And Coenzymes . Part D.

Sunderman, F. W.; Nomato, S. (1970). Measurement of human serum ceruloplasmin by its para phenylendiamine oxidase activity. *Clin. Chem*. **16**(11), 903-910.

Szymanski, W. ; Kazdepka-Zieminska, A. (2003). Effect of homocysteine concentration in follicular fluid on a degree of oocyte maturity. *Ginekol Pol.* **74**(10), 1392-1396.

Tamir, S. ; Izrael, S. ; Vaya, J. (2002). The effect of oxidative stress on ERalpha and ERbeta expression. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **81**(405),327-232.

Tarin, J. J. ; Perez-Albala, S. ; Cano, A. (2000). Consequences on offspring of abnormal function in ageing gametes. *Hum. Reprod. Update*. **6**(6),532-549.

Tarin, J. J. ; Ten, J. ; Vendrell, F. J. ; Cano, A. (1998). Dithiothreitol prevents age associated decrease in oocyte/conceptus viability in vitro. Hum Reprod .**13**(2), 381–386.

Tungtrongchitr, R. ; Pongpaew, P. ; Tongboonchoo, C. ; Vudhivai, N. ; Changbumrung, S. ; Tungtrongchitr, A. ; Phonrat, B. ; Viroonudomphol, D. ; Pooudong, S. ; Schelp, F. P. (2003). Serum homocysteine, B_{12} and folic acid concentration in Thai overweight and obese subjects. *Int. J. Vitam. Nutr. Res*. **73**(1), 8-14.

Vanuffelen, B. E.; Van Derzec, J.; Dekoster, B. M. (1998). *Biochem J.* **330**,719. Cited by Al-Zamyle, O. M.; Al-Nimer, M. S. and Al-Muslih, R. K. (2001). Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infarction. *Nat. J. Chem*. **4**,625-637.

Varley, H.; Gowenlock, A. H. ; Bell, M. (1980). "Practical Clinical Biochemistry". Vol. (1), London, pp. 222-225, 553-555.

Walter, P.B. ; Fung, E.B. ; Killilea, D.W. ; Jiang, Q. ; Hudes, M. ; Madden, J. ; Porter, J. ; Evans, P. ; Vichinsky, E. ; Harmatz, P. (2006). Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with beta-thalassaemia or sickle cell disease. *Br. J. Haematol*. **135**(2), 254–263.

Walters, M. ; Gerarde, H. (1970). An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchem. J.***,** **15**, 231-243.

Wang, Y. ; Sharma, R. K. ; Falcone, T. ; Goldberg, J. ; Agarwal, A. (1997). Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. *Fertil Steril* **68**(5), 826-830.

Yildirim, B.; Demir, S.; Temur, I.; Erdemir, R.; Kaleli, B. (2007). Lipid peroxidation in follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome". *J. Reprod. Med.* **52** (8),722.

Zuelke, K. A. ; Jeffay, S. C. ; Zucker, R. M. ; Perreault, S. D. (2003)**.** Glutathione (GSH) concentrations vary with the cell cycle in maturing hamster oocytes, zygotes, and pre-implantation stage embryos. *Mol. Reprod. Dev.* **64**(1), 106–112.

Zuelke, K. A. ; Jones, D. P. ; Perreault, S. D. (1997). Glutathione oxidation is associated with altered microtubule function and disrupted fertilization in mature hamster oocytes. *Biol. Reprod.* **57**(6),1413–1419.