مقاله پژوهشی

بررسی پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPx1 در ناباروری ایدیوپاتیک مردان

مینا احمدی مزجین*، دکتر زیور صالحی**، دکتر محمدهادی بهادری***

دریافت: ۹۳/۶/۳ پذیرش: ۹۳/۱۲/۹

چکیده:

مقدمه و هدف: ناباروری ٪۱۵-۱۰ از زوج های جهان را تحت تأثیر قرار می دهد و فاکتورهای ناباروری مردان نیمی از موارد ناباروری را به خود اختصاص می دهد. شواهد نشان می دهد که تنوع ژنتیکی در آنزیم های آنتی اکسیدان می تواند ناباروری مردان را تحت تأثیر قرار دهد. گلوتاتیون پراکسیداز ۱ یک سلنوآنزیم آنتی اکسیدانی است که فعالیت رادیکال های آزاد را کاهش می دهد. پلی مورفیسم Pro198Leu در ژن GPx1، باعث تغییر اسیدآمینه پرولین به لوسین در کدون ۱۹۸ می شود به طوری که آلل لوسین فعالیت کمتری نسبت به پرولین دارد. هدف از این مطالعه تعیین پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPx1 در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک میباشد.

روش کار: در این مطالعه موردی- شاهدی، ۱۰۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۱۲۰ فرد سالم به عنوان کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA از لکوسیت های خون محیطی، جهت تعیین ژنوتیپ ژن GPx1 از تکنیکPCR – RFLP با کمک آنزیم ApaI استفاده گردید.

نتایج: فراوانی ژنوتیپ های Pro/Pro، Pro/Leu، Leu/Leu ژن GPx1 در بیماران به ترتیب ۱۳٪، ۷۶٪ و ۱۱٪ می‌باشد، در حالی که در گروه کنترل به ترتیب ۲٤/۱۷٪، ۶۷/۵٪ و ۸/۳۳٪ می‌باشد، همچنین فراوانی آللی Pro و Leu ژن GPx1 در بیماران به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/٤۹ می باشد در حالی که در گروه کنترل به ترتیب ۰/۵۸ و ۰/٤۲ است. بر پایه نتایج بدست آمده از این مطالعه، تفاوت معنی داری در توزیع ژنوتیپی و آللی ژن GPx1 بین مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و کنترل دیده نشد ($P>0.05$).

نتیجه نهایی: نتایج نشان داد که در جمعیت مورد مطالعه پلی مورفیسم کدون ۱۹۸ ژن GPx1 با ناباروری ایدیوپاتیک مردان مرتبط نمی‌باشد. اگر چه مطالعات بیشتر در مورد ژن GPx1 جهت درک بهتر نقش این ژن در ناباروری ایدیوپاتیک مردان مورد نیاز می‌باشد.

کلید واژه ها: پلی مورفیسم / ژنGPx1 / ناباروری مردان

مقدمه:

ناباروری به حالتی اطلاق می‌شود که زوجی پس از یکسال زندگی مشترک بدون استفاده از روش‌های جلوگیری از بارداری علیرغم مقاربت کافی موفق به حاملگی نشده باشند (۱). ۱۸-۱۳ درصد از زوجین مشکل باروری دارند و نیمی از مشکلات ناباروری مربوط به مردان می‌باشد (۲،۳). در بیش از نیمی از مردان نابارور، دلیل ناباروری ناشناخته است و از آن تحت عنوان ناباروری ایدیوپاتیک (Idiopathic) نام می‌برند. بسیاری از تغییرات اسپرم در ناباروری ایدیوپاتیک به سطوح بالایی از گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS) مربوط می‌شود. گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن شامل آنیون‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسید نیتریک و متابولیت های حاصل از اکسیژن می‌باشند (۴،۵). گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن در غلظت پایین نقش مهمی در بلوغ و عملکرد اسپرم مانند حجم پذیری و واکنش آکروزومی ایفاء می‌کنند (۶). افزایش تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن منجر به

* کارشناسی ارشد زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان
** استاد گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان (salehiz@guilan.ac.ir)
*** دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان

آسیب اکسیداتیو لیپید، پروتئین و DNA سلولی می‌شود (۷). آسیب DNA اسپرم منجر به کاهش حرکت اسپرم، آسیب غشای آکروزومی و ناتوانی اسپرم در باروری اوسیت می‌گردد. در شرایط طبیعی، گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن توسط آنتی اکسیدان ها غیرفعال می‌شوند. لذا آنتی اکسیدان ها، آسیب اکسیداتیو را کاهش می‌دهند و میزان باروری اسپرم را افزایش می‌دهند (۸). آنتی اکسیدان ها به دو فرم آنزیمی و غیرآنزیمی دیده می‌شوند. آنتی اکسیدان های غیرآنزیمی شامل آلفا- توکوفرول (ویتامین E)، β-کاروتن، ویتامین C و گلوتاتیون می‌باشند. از آنتی اکسیدان های آنزیمی می‌توان گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را نام برد (۹). از این میان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز دارای اهمیت خاصی است. تاکنون ۵ ایزو آنزیم از GPx شناخته شده است (۱۰). نوع اول یا گلوتاتیون پراکسیداز ۱ یکی از فراوانترین GPx ها می باشد و در همه سلولها به طور گسترده وجود دارد (۱۱). در دستگاه تناسلی نر، GPx1 در بیضه ها، پروستات، وزیکول سمینال، مجرای دفران و اپیدیدیم یافت می شود. از نظر موقعیت مکانی این آنزیم در سیتوزول و میتوکندری حضور دارد. GPx1 یک پروتئین هموتترامر است که از چهار زیر واحد تشکیل شده و هر زیر واحد آن حاوی یک اتم سلنیوم با وزن مولکولی ۲۲ کیلو دالتون می باشند (۱۲). GPx2 به طور عمده در لوله گوارش بیان می شود، این آنزیم اپی تلیوم روده را از تنش های اکسیداتیو محافظت می کند (۱۳). GPx3 از نظر موقعیت مکانی بیشتر در پلاسمای کلیه یافت می شود (۱۴). GPx4 از دیگر آنزیمهای این خانواده است که سوبسترای اصلی آن هیدروپراکسید لیپیدی غشاء ها می باشد (۱۵). این آنزیم به طور گسترده در بافت های گوناگون توزیع شده است اگر چه به میزان بیشتری در بیضه ها یافت می شود. یک ویژگی مهم GPx4 نقش دوگانه این آنزیم است به طوری که در مراحل تأخیری اسپرماتوژنز از گلوتاتیون پراکسیداز حاوی سلنو سیستئین به یک پروتئین ساختاری تغییر شکل می یابد. ایزو آنزیم دیگر GPx5 است. این پروتئین به صورت هموتترامر است و فاقد سلنیوم در جایگاه فعال می باشد با این وجود یک فعالیت نرمال نسبت به هیدرو پراکسیدها دارد و در اپیدیدیم ترشح می شود (۱۶). گلوتاتیون پراکسیداز۱ توسط ژن GPx1 (NG_012264.1) کدگذاری می‌شود (۱۷،۱۸). مطالعات کروموزومی نشان می دهد این ژن ۱۱۸۳ جفت باز طول دارد و روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۳ (3p21.3) قرار گرفته است (۱۹). پروتئین GPx1 از گلوتاتیون(GSH) به عنوان عامل احیاکننده استفاده می‌کنند و گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن را کاهش می‌دهد. ژن GPx1 یک ژن پلی مورفیک است و تاکنون ۳۸ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن GPx1 گزارش شده است. از پلی مورفیسم های مهم آن، جایگزینی اسیدآمینه لوسین با پرولین در موقعیت ۱۹۸ به علت جانشینی باز تیمین با سیتوزین (rs1050450, 599C>T) می‌باشد (۲۰). شناسایی اسیدآمینه در کدون ۱۹۸ (پرولین یا لوسین) وابسته به فعالیت آنزیم در پاسخ به افزایش سلنیوم می‌باشد. مطالعات نشان داده اند که آلل Pro نسبت به آلل Leu پاسخ بیشتری به تحریک فعالیت آنزیم با مکمل سلنیوم می دهد (۲۱). بر این اساس انتظار می رود که آلل Leu با افزایش میزان H_2O_2 و نیز خطر برخی از بیماری ها همراه باشد (۲۲).

با توجه به نقش ژن های کدکننده آنزیم های آنتی اکسیدانی در ناباروری مردان و همچنین اهمیت پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPx1، این مطالعه با هدف تعیین پلی مورفیسم Pro198 Leu ژن GPx1 در جمعیتی از مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک انجام گرفت.

روش کار:

نمونه گیری: در این مطالعه موردی- شاهدی، ۱۰۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۱۲۰ فرد سالم به عنوان کنترل مراجعه کننده به بخش ناباروری بیمارستان الزهرا، رشت، مورد بررسی قرار گرفتند. قبل از دریافت رضایت نامه از افراد مورد بررسی، اطلاعات لازم در خصوص ماهیت پژوهش به صورت کتبی و شفاهی در اختیار آنان قرار داده شد. محدوده سنی بیماران و افراد کنترل ۴۸- ۲۷ سال بود. از افراد مورد مطالعه، ۱ میلی لیتر خون در لوله های استریل حاوی EDTA دریافت گردید و نمونه های خون در C ۲۰°- قبل از استخراجDNA نگهداری شدند. استخراج DNA توسط کیت GPP Solution (شرکت ژن پژوهان، ایران) صورت گرفت. پس از انجام الکتروفورز جهت بررسی DNA استخراج شده، نمونه‌ها در فریزر ۷۰°C- نگهداری شدند.

ژنوتایپینگ: جهت ژنوتایپینگ ژن GPx1 در کدون ۱۹۸ از تکنیک PCR-RFLP استفاده گردید. به منظور تکثیر قطعه‌ای از ژن GPx1 به طول ۳۱۴ جفت باز از واکنش PCR با کمک جفت پرایمرهای طراحی شده، استفاده گردید. طراحی پرایمرها با استفاده از نرم افزار Oligo نسخه 7 (Molecular Biology Insights Inc, Cascade, CO, USA) صورت گرفت.خصوصیات پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن GPx1

توالی(5' → 3')	طول(nt)	دمای ذوب (C °)	محتوای CG (٪)
GTGTGCCCCTACGCAGGTA F	۱۹	۵۸/۹	۶۳/۲
CACACAGTTCTGCTGACACC R	۲۰	۵۸/۱	۵۵/۰

محل اتصال پرایمر F نوکلئوتید ۵۸۷۱ الی ۵۸۹۰ و پرایمر R نوکلئوتید شماره ۶۱۶۶ الی ۶۱۸۶ می باشد. مواد مصرف شده در واکنش PCR ژن GPx1، شامل DNA template۱gμ، Taq premix ۱X (شرکت پارس طوس، ایران) ۰/۵ pmol/lμ پرایمرF و R بود. برنامه PCR با واسرشت سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۴°C، ۳۵ سیکل با برنامه ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۶۸°C به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت به مدت ۵ دقیقه در ۷۲°C در دستگاه ترموسایکلر (شرکت BioRad) تنظیم گردید. پس از انجام الکتروفورز محصولات PCR، آشکارسازی باندها توسط دستگاه GEL Documentation (شرکت Bio Rad) انجام شد و سپس محصولات حاصل از PCR، در حضور آنزیم ApaI تحت هضم قرار گرفتند. جایگاه شناسایی و برش آنزیم به صورت'3....GGGCCC...5'

3'....CCCGGG....5'

واکنش RFLP شامل مقدار ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، ۱ واحد آنزیم *ApaI* Fast Digest (شرکت Fermentas، USA)، ۲میکرولیتر بافر Fast Digest Green1X (شرکت Fermentas، USA) و حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر بود. انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۳۷ °C و به مدت ۲۰ دقیقه صورت گرفت. در پایان، به منظور بررسی نحوه عمل آنزیم از الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ استفاده گردید.

آمار و آنالیز: آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار MedCalc ویرایش 12.1 صورت گرفت. فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی در هر دو گروه بیمار و کنترل محاسبه گردید. جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ ها و آلل ها در دو گروه بیمار و کنترل از آزمون Chi-Square استفاده گردید. P>0.05 نشان دهنده عدم معنی دار بودن اختلاف نتایج بین دو گروه می‌باشد.

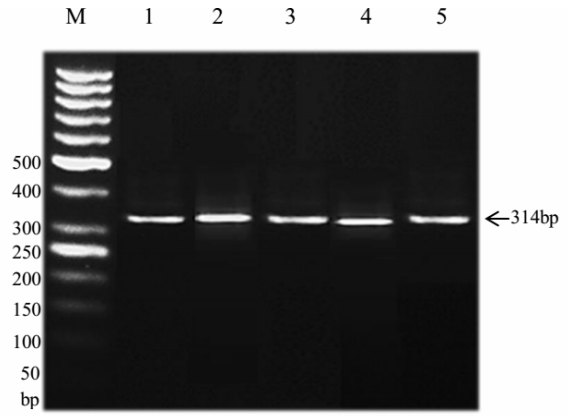
نتایج:

در این مطالعه در مجموع ۲۲۰ نفر شامل ۱۰۰ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۱۲۰ مرد سالم به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. سابقه ناباروری در بیماران حداقل دو سال بود. معیار خروج نمونه‌ها عبارت بودند از: مصرف دارو، عفونت مایع منی، واریکوسل، بیماری‌های سیستمیک، سابقه التهاب بیضه، حضور آنتی بادی‌های ضد اسپرم، هیپوگنادیسم هیپوتروفیک و سابقه شیمی درمانی یا رادیوتراپی (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین سن و خصوصیات کلینیکی افراد مورد مطالعه

	بیماران	کنترل
سن (سال)	۳۸/۵± ۹/۵	۳۶±۹
غلظت اسپرم ($\times 10^6$ ml)	۸۰/۷±۴/۲۱	۱۰۰±۲/۴
حرکت اسپرم (درصد)	۳۵/۷±۰/۶۳	۶۳/۵±۱/۲۱

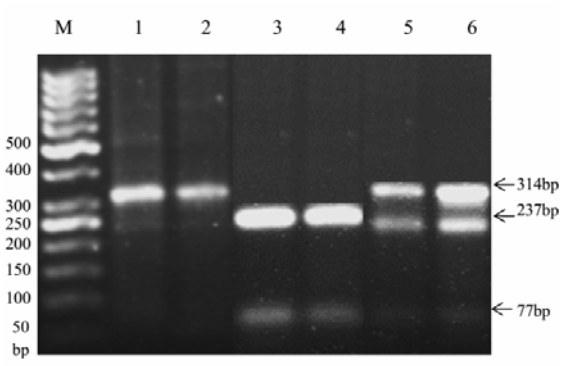
تکثیر قطعه ۳۱۴ جفت بازی ژن GPx1 از تمامی DNA های استخراج شده با موفقیت صورت گرفت. شکل۱، قطعه تکثیر شده حاصل از PCR را در تعدادی از نمونه‌ها نشان می‌دهد.



شکل ۱: محصولات PCR ژن GPx1 بر روی ژل آگارز ۲٪

ردیف M مربوط به مارکر ۵۰bp جهت تشخیص قطعه تکثیر شده و ردیف‌های ۵-۱ نمایانگر قطعه تکثیر شده می‌باشد

در واکنش RFLP ژنوتیپ هموزیگوت Leu/Leu تنها دارای یک باند ۳۱۴bp، هتروزیگوت Pro/Leu سه باند ۷۷bp، ۲۳۷bp و ۳۱۴bp، هموزیگوت Pro/Pro حاوی دو باند ۷۷bp و ۲۳۷bp بود (شکل ۲).



شکل ۲: محصولات RFLP روی ژل آگارز ۲٪

ردیف M نشان دهنده وزن مولکولی ۵۰bp مارکر است. ردیف های ۱ و ۲ با طول قطعه ۳۱۴ جفت بازی نشانه ژنوتیپ TT، ردیف ۳ و ۴ با حضور قطعات ۲۳۷و ۷۷ جفت بازی نشان دهنده ژنوتیپ CC و ردیف ۵ و ۶ با قطعات ۳۱۴، ۲۳۷و ۷۷ جفت بازی بیان کننده ژنوتیپ CT (هتروزیگوت) می‌باشند

بررسی نتایج نشان داد که از ۱۰۰ بیمار، ۱۱٪ دارای ژنوتیپ L/L، ۱۳٪ ژنوتیپ P/P و ۷۶٪ ژنوتیپ L/P بودند. در گروه کنترل، در ۸/۳۳٪ ژنوتیپ L/L، در۲۴/۱۷٪ ژنوتیپ P/P و در ۶۷/۵٪ ژنوتیپ هتروزیگوت مشاهده گردید. فراوانی آلل Pro و Leu در بیماران به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۴۹ می باشد در حالی که در گروه کنترل به ترتیب ۰/۵۸ و ۰/۴۲ است (جدول ۳).

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپی و آللی مشاهده شده در ژن GPx1 افراد مورد مطالعه

	مورد تعداد(درصد)	شاهد تعداد(درصد)	P	χ^2
ژنوتیپ ها				
L/L	۱۱ (۱۱)	۱۰ (۸/۳۳)		
L/P	۷۶ (۷۶)	۸۱ (۶۷/۵)	۰/۱	۴/۵۲
P/P	۱۳ (۱۳)	۲۹ (۲۴/۱۷)		
آلل ها				
L	۰/۴۹	۰/۴۲	۰/۱۶	۱/۸۹
P	۰/۵۱	۰/۵۸		

با استفاده از نرم افزار MedCalc، مقدار χ^2=۴/۵۲ و P=0.1 در محاسبه ژنوتیپ ها و مقدار χ^2 =1.89 و P=0.16 در محاسبات مربوط به فراوانی آللی به دست آمد. بنابراین، ارتباط معنی داری بین دو گروه بیمار و کنترل از نظر میزان ژنوتیپ ها و آلل های ژن GPx1 وجود نداشت.

بحث:

در این مطالعه، به بررسی اثر پلی مورفیسم ژن GPx1 در بیماران مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک مردان در جمعیت استان گیلان پرداخته شد. نتایج پیشنهاد می کند که احتمالاً پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPx1 در جمعیت مورد مطالعه ارتباط مشخصی با ناباروری ایدیوپاتیک مردان ندارد. تاکنون مطالعات محدودی در خصوص ناباروری ایدیوپاتیک مردان در ایران انجام شده است (۲۳،۲۴) و هیچ مطالعه ای در خصوص نقش پلی مورفیسم های ژن GPx1 در ناباروری ایدیوپاتیک مردان صورت نگرفته است. در مطالعه انجام شده در زمینه جهش ژن های PHGPx در مردان نابارور ایرانی نشان داده شد که شیوع جهش ژن GPx4 در افراد بیمار پایین بوده و نمی تواند به عنوان یکی از عوامل شایع در اختلالات ناباروری محسوب شود (۲۵). افزایش حساسیت به استرس اکسیداتیو در مبتلایان به ناباروری ممکن است به دلیل اختلال در ظرفیت آنتی اکسیدانی (Total Antioxydant Capacity) پلاسمای منی باشد (۲۶). از آنجایی که استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش ROS نقش مهمی در اختلال عملکرد اسپرم بیماران نابارور دارد، بنابراین بدن باید بتواند به طریقی میزان ROS را کاهش داده تا مانع آسیب به اسپرم ها و کاهش باروری شود (۲۷). یکی از سیستم های دفاعی علیه آسیب های ناشی از استرس اکسیداتیو در مایع منی و اسپرم انسان خانواده آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز می باشد. لیپیدهای اسپرم مهمترین سوبسترا برای پراکسیداسیون می باشند. اسپرم انسان توانایی تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن را در غشای پلاسمایی خود دارد، در صورت کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، میزان گونه های واکنش پذیر اکسیژن افزایش می یابد و در نتیجه ی واکنش میان ROS با غشاهای سلولی از طریق آبشار پراکسیداسیون لیپیدی تمام عملکردهای اسپرم از بین می رود و در نهایت ناباروری رخ می دهد (۲۸). GPx1 به عنوان یک آنتی اکسیدان آنزیمی، وابسته به سلنیوم است و پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن کاتالیز می‌کند. GPx1 حساسیت زیادی به تغییرات Se دارد در مقدار کم Se، سطح mRNA و پروتئین کاهش می یابد. آنزیم های آنتی اکسیدان دارای پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی متعددی هستند. این پلی مورفیسم ها در نواحی مختلف

ژن شامل اگزون یا ناحیه کد کننده، اینترون یا ناحیه غیر کدکننده، 3'UTR، 5'UTR و ناحیه راه انداز قرار دارند. در میان پلی مورفیسم های ژن GPx1، پلی مورفیسم Pro198Leu، به دلیل فراوانی و تغییرات حاصل در توالی آمینو اسیدی بیشتر مورد توجه محققان می باشد (۲۹،۳۰). در کدون ۱۹۸ در اگزون ۲ ژن یک جابجایی از C به T صورت می‌گیرد که منجر به تغییر اسیدآمینه پرولین به لوسین می‌شود (۲۰). شناسایی اسیدآمینه در کدون ۱۹۸ (پرولین یا لوسین) وابسته به فعالیت آنزیم در پاسخ به افزایش سلنیوم می‌باشد به طوری که آلل پرولین (Pro) پاسخ بیشتری به تحریک فعالیت آنزیم با مکمل سلنیوم می‌دهد (۲۱). در حالی که آلل لوسین فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهد و زمینه را برای انواع مختلفی از بیماری‌ها ایجاد می‌کند (۲۲). نقش ژن GPx1 در برخی از بیماری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. در سال ۲۰۰۴، یانگ و همکاران در خصوص بررسی سرطان ریه و پلی مورفیسم ژن GPx1 مطالعه‌ای انجام دادند، نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که خطر سرطان ریه در افراد سیگاری با ژنوتیپ CC نسبت به افراد سیگاری با ژنوتیپ TT بیشتر وجود دارد (۳۱) اما در مطالعه راون و همکاران ارتباط معنی داری بین سرطان ریه و استعمال سیگار در افراد با ژنوتیپ TT وجود داشت (۳۲). در مطالعه‌ی گوربوزلر و همکاران در سال ۲۰۱۲، ارتباطی بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی Pro198Leu ژن GPx1 در بیماری التهاب لوزه یافت نشد (۳۳). در ارزیابی کوچک گرگین و همکاران بر روی سرطان مثانه ، ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ Leu/Leu و خطر سرطان مثانه گزارش گردید (۳۴). در مطالعه آینالی و همکاران در سال ۲۰۱۳، ارتباط معناداری بین گروههای کنترل و بیماران سیگاری مبتلا به سرطان حنجره و پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPx1 وجود نداشت (۳۵). در مطالعه ژانگ و همکاران ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم های ژن GPx1 و خطر ابتلا به بیماری قلبی- عروقی وجود داشت (۳۶). در سال ۲۰۱۴، در مطالعه اکباس و همکاران، ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم Pro198Leu ژن GPx1 و بیماری سندرم ماهیچه ای – اسکلتی یافت نشد (۳۷). از علل نتایج متفاوت در مطالعات پلی مورفیسم ژنی می‌توان به خزانه ژنی متفاوت، اندازه جمعیت مورد بررسی و حتی روش های مولکولی مورد استفاده اشاره نمود.

نتیجه نهایی:

به طور کلی در این مطالعه، تفاوت معنی داری بین جمعیت بیمار و کنترل در توزیع فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده نگردید. بنابراین، جهت تعیین نقش GPx1 در بیماری ناباروری ایدیوپاتیک لازم است مطالعات گسترده‌ای صورت گیرد.

سپاسگزاری:

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی مصوب میباشد و بدینوسیله از دانشگاه گیلان به جهت حمایت مالی از بخشی از تحقیق مورد نظر کمال سپاسگزاری را داریم.

References

1. American Society for Reproductive Medicine. Definition of infertility. Fertil Steril 2004; 82 (1)S206
2. Hull M, Glazener C, Kelley N, Conway D, Foster P, Hunten R,etal. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. Br Med J 1985; 291(6510): 1693-1697.
3. Irvine DS. Epidemiology and aetiology of male infertility. Hum Reprod 1998; 1: 33-44.
4. de Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. Hum Reprod 1995; 1: 15-21.
5. Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A, Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. Curr Pharm Des 2004;10(14):1611-1626.
6. de Lamirande E, Gagnon C. Capacitation-associated production of superoxide anion by human spermatozoa. Free Radic Biol Med 1995; 18(3): 487-495.
7. Aitken RJ. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. Reprod Fertil Dev 1995; 7(4): 659-668.
8. Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. J Dairy Sci 1993; 76(9): 2812-2823.
9. Li J, Foote RH, Simkin M. Development of rabbit zygotes cultured in protein-free medium with catalase, taurine, or superoxide dismutase. Biol Reprod 1993; 49(1): 33-37.
10. El-Far MA, Bakr MA, Farahat SE, Abd El-Fattah EA. Glutathione peroxidase activity in patients with renal disorders. Clin Exp Nephrol 2005; 9(2):127-131.
11. Lei XG, Cheng WH, McClung JP. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. Ann Rev Nutr 2007; 27: 41-61.
12. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. Free Radic

Biol Med 1999; 27(9-10): 951-965.
13. Wingler K, Brigelius-Flohe R. Gastrointestinal glutathione peroxidase. Biofactors 1999; 10(2-3): 245-249.
14. Roxborough HE, Mercer C, McMaster D, Maxwell AP, Young IS. Plasma glutathione peroxidase activity is reduced in haemodialysis patients. Nephron 1999; 81(3): 278-283.
15. Conrad M, Schneider M, Seiler A, Bornkamm GW. Physiological role of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in mammals. Biol Chem 2007; 338(10): 1019-1025.
16. Vernet P, Rigaudiere N, Ghyselinck N, Dufaure JP, Drevet JR. In vitro expression of a mouse tissue specific glutathione-peroxidase-like protein lacking the selenocysteine can protect stably transfected mammalian cells against oxidative damage. Biochem Cell Biol 1996; 74(1): 125-131.
17. Flohe L, Gunzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. FEBS Lett 1973; 32(1):132-134.
18. Arthur JR. The glutathione peroxidases. Cell Mol Life Sci 2000; 57(13-14):1825-1835.
19. Kiss C, Li J, Szeles A, Gizatullin RZ, Kashuba VI, Lushnikova T, et al. Assignment of the ARHA and GPx1 genes to human chromosome bands 3p21.3 by in situ hybridization and with somatic cell hybrids. Cytogenet Cell Genet 1997; 79(3-4):228-230.
20. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal 2011; 15(7): 1957-1997.
21. Hu YJ, Diamond AM. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. Cancer Res 2003; 63(12): 3347-3351.
22. Zhuo P, Diamond AM. Moecular mechanisms by which selenoproteins affect cancer risk and progression. Biochem Biophys Acta 2009;11(54):13.
23. Moradi M, Moradi A, Alemi M, Ahmadnia H, Abdi H, Ahmadi A, etal. Safety and efficacy of clomiphene citrate and L-carnitine in idiopathic male infertility: a comparative study. Urol J 2010; 7(3): 188-93.
24. Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad S. Relationship between genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (C677T, A1298C, and G1793A) as risk factors for idiopathic male infertility. Reprod Sci 2011; 18(3): 304-15.
25. Lakpour N, Modarresi MH, Kharazi H, Akhondi MM, Veisi Raygani A, Ghasemi J,etal. Polymorphism in Phospholipid Hydroperoxide Glutathione peroxidase (PHGPx) gene in Ira nian infertile men. J Reprod Infertil 2006; 7(3): 198-208.
26. Smith R, Vantman D, Ponce J, Scobar J, Lissi E E. Total antioxidant capacity of human seminal plasma. Hum Reprod 1996; 11(8): 1655-60.
27. Alkan I, Simsek F, Haklar G, Kervancioglu E, Ozveri H, Yalcin S, et al. Reactive oxygen species production by the spermatozoa of patients with idiopathic infertility: relationship to seminal plasma antioxidants. J Urol 1997; 157(1): 140-3.
28. Sanocka D, Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells. Reprod Biol Endocrinol 2004; 2:12.
29. Rajaraman P, Hutchinson A, Rothman N, Black PM, Fine HA, Loeffler JS, et al. Oxidative response gene polymorphisms and risk of adult brain tumors. Neuro Oncol 2008; 10: 709–715.
30. Suzen HS, Gucyener E . CAT C-262T and GPX1 Pro198Leu polymorphisms in a Turkish population. Mol Biol Rep 2010; 37(1): 87-92.
31. Yang P, Bamlet WR, Ebbert JO, Taylor WR, de Andrade M. Glutathione pathway genes and lung cancer risk in young and old populations. Carcinogenesis 2004; 25(10): 1935-1944.
32. Ravn-Haren G, Olsen A, Tjonneland A, Dragsted LO, Nexo BA, Wallin H, et al. Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. Carcinogenesis 2006; *27*(4): 820-825.
33. Gurbuzler L, Sogut E, Koc S, Eyibilen A, Yelken K, Senkal HA, Aksakal C. "Manganese-superoxide dismutase and glutathione peroxidase 1 polymorphisms in recurrent tonsillitis and tonsillar hypertrophy. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2012; 76(9): 1270-1273.
34. Kucukgergin C, Sanli O, Amasyali AS, Tefik T, Seckin S. Genetic variants of MnSOD and GPx1 and susceptibility to bladder cancer in a Turkish population. Med Oncol 2012; 29(3): 1928-1934.
35. Aynali G, Dogan M, Sutcu R, Yuksel O, Yariktaş M, Unal F,etal. Polymorphic variants of MnSOD Val16Ala, CAT-262 C < T and GPx1 Pro198Leu genotypes and the risk of laryngeal cancer in a smoking population. J Laryngol Otol 2013; 127(10):997-1000.
36. Zhang JX, Wang ZM, Zhang JJ, Zhu LL, Gao XF, Chen SL. Association of glutathione peroxidase-1 (GPx1) rs1050450 Pro198Leu and Pro197Leu polymorphisms with cardiovascular risk: a meta-analysis of observational studies. J Geriatr Cardiol 2014; 11(2): 141-50.
37. Akbas A, Inanir A, Benli I, Onder Y, Aydogan L. Evaluation of some antioxidant enzyme ac tivities (SOD and GPX) and their polymorphisms (MnSOD2 Ala9Val, GPX1 Pro198Leu) in fibromyalgia. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2014; 18(8): 1199-203.

Original Article

The Study of GPx1 Pro198Leu Polymorphism in Idiopathic Male Infertility

M. Ahmadi Mazjin, M.Sc.*; Z. Salehi, Ph.D.**; M.H. Bahadori, Ph.D.***

Received: 25.8.2014 Accepted: 28.2.2015

Abstract

Introduction & Objective: Infertility affects 10-15% of couples worldwide, and male factors account for nearly half of all infertility cases. Evidence suggests that genetic variation in anti-oxidant enzymes could influence male infertility. Glutathione peroxidase 1 (GPx1) is an anti-oxidant selenoenzyme that detoxify peroxide radicals. GPx1 Pro198Leu polymorphism causes an aminoacid change from Pro to Leu at codon 198, with the Leu variants being less active than its Pro counterpart. The aim of this study was to determine the association between GPx1 Pro198Leu polymorphism and idiopathic male infertility.

Materials & Methods: The case – control study comprised of two groups: 100 infertile patients and 120 fertile healthy control men. Genotyping was carried out by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) using ApaI endonuclease. Chi-square test was applied for statistical comparison of genotype data.

Results: The prevalence of genotype frequencies of the GPx1 gene Pro/Pro, Pro/Leu, Leu/Leu were 13%, 76%, 11% in infertile male, respectively, while in the control were 24.17%, 67.5%, 8.33%, respectively. Allele frequencies of the GPx1 gene Pro, Leu were 0.51, 0.49 in infertile male, while in the control were 0.58 and 0.42, respectively. No significant differences between cases and controls were found in the allelic and genotype distribution of the GPx1 Pro198Leu polymorphism (P>0.05).

Conclusion: In conclusion, the overall results of the study indicate that GPx1 Pro198Leu polymorphism is not associated with idiopathic male infertility. However, further research is required to clarify the role of GPx1 gene in idiopathic male infertility.

(Sci J Hamadan Univ Med Sci 2015; 22 (1):76-82)

Keywords: Infertility, Male / Genes, GPx1 / Gene Polymorphism

---

* M.Sc. in Biology, School of Sciences, Guilan University, Guilan, Iran.

** Professor, Department of Biology, School of Sciences Guilan University, Guilan, Iran. (salehiz@guilan.ac.ir)

*** Associate Professor, Cellular & Molecular Research Center, School of Medicine Guilan University of Medical Sciences & Health Services, Guilan, Iran.