

بررسی جهش‌های ژن آنزیم فسفولیپید هیدروپراکسیدگلوکوتایون پراکسیداز در مردان

- ✓ نارسایی اندوکرینی (مثل سندرم کالمن، سندرم پرادرویلی)
- ✓ انسداد لوله‌های تناسلی در مردان
- ✓ آنتی بادی علیه اسپرم
- ✓ عوامل محیطی، استرس و بیماری
- ✓ مشکلات جنسی
- ✓ عوامل ایدیوپاتیک مثل آزواسپرمی و الیگواسپرمی

وجود لکوسیت‌ها و اسپرم‌های معیوب یا مرده در مایع منی به عنوان منبعی برای تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه آسیب رسانی به اسپرم‌های سالم است. برای خنثی کردن این ترکیبات مکانیسم‌های دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی در اسپرم و مایع منی وجود دارد. آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز نوع چهار به عنوان سلنوپروتئین اصلی اسپرم یکی از مکانیسم‌های آنزیمی است. در هنگام کاهش فعالیت این آنزیم ممکن است نارسایی‌هایی در روند اسپرماتوزن و کارکرد اسپرم ایجاد شود. با توجه به اینکه نقص در بیان ژن GPX-4 یا وجود جهش در این ژن می‌تواند سبب کاهش فعالیت PHGPX شود. هدف این مطالعه بررسی آنزیم PHGPX در سطح ژن برای شناخت جهش‌های ایجاد شده در ژن PHGPX در اسپرم مردان نابارور است.

دو دلیل عمده اصلی در ناباروری مردان (۵):

- ✓ اکسیداتیو استرس (رادیکال‌های آزاد).
- ✓ حذف در کروموزوم Y.

نبود توازن میان رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن، مایه‌ی افزایش این رادیکال‌ها است. در اثر تولید انبوه ROS (شامل همه مولکول‌های بسیار فعال واجد اکسیژن است) است. در حقیقت یکی از عوامل موثر در کارکرد طبیعی اسپرم، ROS است که باعث کارکرد طبیعی و پاتوفیزیولوژی اسپرم، از جمله واکنش اکروزومی، بیش‌فعالی، ظرفیت‌پذیری و واکنش‌های وابسته به اکسیداسیون-احیا ضروری است (۶). افزون بر این به دلیل سرشار بودن غشا پلاسمایی اسپرم از اسیدهای چرب با چندین پیوند غیر اشباع (PUFA)، نسبت به تخریب پراکسیداتیو ROS حساس است. همچنین وجود این اسیدهای چرب با پیوند غیر اشباع برای حفظ سیالیت غشا و کارکرد طبیعی اسپرم طی فرایند لقاح ضروری است. تولید زیادی ROS توسط اسپرماتوزوای ناهنجار، یکی از

ناباروری

تقریباً ۸ تا ۱۰٪ زوج‌ها با مشکلات ناباروری روبرو هستند. علت‌های ناباروری در حدود ۴۰٪ در مردان، ۵۰٪ در زنان و ۱۰٪ سایر موارد شیوع دارد (۱). نازایی مادرزادی یا اکتسابی است. عفونت‌ها یکی از عوامل عمده نازایی هستند. شایع‌ترین و مهم‌ترین علت نازایی اکتسابی عفونت‌های لگنی هستند که حاصل بیماری‌های مقاربتی، سقط غیر بهداشتی یا عفونت‌های دوره زایمان و بعد از آن هستند (۲).

ناباروری مردان

در میان ناباروری مردان ۷۰٪ موارد مشخص و ۳۰٪ باقی مانده، ناشناخته است که از آن به‌عنوان موارد ایدیوپاتیک نام برده می‌شود که در آنها نارسایی ژنتیکی بویژه در سطح مولکولی دارای اهمیت است (۳).

انگیزه‌های اصلی ناباروری در مردان

- ✓ نارسایی‌های بیضه‌ای (مثل Orchitis)

چندین دلیل ناباروری مردان به شمار می‌آید. که این مقدار زیاد سبب افزایش نفوذپذیری اسپرم و در نهایت سبب ایجاد ناهنجاری‌های مورفولوژیک و اثرات منفی روی حرکت اسپرم می‌شود (۷).

در ۴۰٪ مردان نابارور مقدار ROS بالاتر از حد طبیعی است. برای محافظت از اسپرم و ساختار آن و ماکرومولکول‌های دیگر دو سیستم آنتی‌اکسیدانی وجود دارد، که یکی آنزیمی و دیگری غیر آنزیمی در پلاسمای اسپرم و منی وجود دارد (۸).

سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل: آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX)، گلوکوتاتیون رودوکتاز (GR)، سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و آنزیم کاتالاز است (۸).

سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی شامل: α -توکوفرول، β -کاروتن، اسکوربات، اورات، ترانسفرین، لاکتوفرین و سرولوپلاسمین است (۸).

از میان آنتی‌اکسیدان‌های ذکر شده، آنتی‌اکسیدان آنزیمی گلوکوتاتیون پراکسیداز دارای اهمیت خاصی برای مقابله با مقادیر بالای ROS بوده که در اثر جهش در ژن این آنتی‌اکسیدان آنزیمی، با کاهش بیان این آنزیم همراه خواهد بود. این آنزیم ۵ نوع ایزوآنزیم دارد که از بین آنها گلوکوتاتیون پراکسیداز نوع ۱ تا ۴ حاوی سلنیم (سلنو پروتیین) و نوع ۵ فاقد سلنیم است. محل بیان آنزیم GPX-۵ در اپیدیدیم است و این آنزیم دارای مقادیر فعالیت کمی در غشاء اسپرم است (۹). نوع GPX-۱ فرم سیتوپلاسمی آنزیم است و در بافت‌های کبد، کلیه و غده ادرنال و... بیان می‌شود. فرم GPX-۲ و GPX-۳ به ترتیب در دستگاه گوارش و پلاسمای (فرم خارج سلولی) وجود دارند (۱۰).

GPX-۴ (فسفولیپید هیدروپراکسید گلوکوتاتیون پراکسیداز) که از همه مهمتر است، برای نخستین بار توسط Ursine و همکارانش از کبد خوک تخلیص شده، مونومر است و برخلاف سایر ایزوآنزیم‌های GPX در مقادیر زیادی در بافت بیضه نمود داشته و در تولید مثل نقش دارد. سطح بالای آنزیم PHGPX در بافت بیضه به دلیل حضور گنادوتروپین‌ها است (۱۱). این آنزیم یک آنتی‌اکسیدانی نیرومند برای حمایت از غشاء در مقابل استرس اکسیداتیو است (۱۲). PHGPX در بیضه به سه شکل سیتوپلاسمی، میتو کندریایی یا هسته‌ای بیان می‌شود. در مراحل نهایی روند بلوغ اسپرم طی اسپرمیوژنز، آنزیم‌های PHGPX که از راه پیوند کووالانسی

پل سلنو دی سولفیدی به سایر پروتئین‌های سلولی پیوند می‌شود، فعالیت آنزیمی خود را از دست داده و به عنوان ترکیبات کراتینی، جزئی از ساختار سایتو اسکلتون سلولی در ماریپچ میتو کندریایی ناحیه گردن اسپرم قرار می‌گیرد. همچنین آنزیم PHGPX با استفاده از گروه‌های تیول پروتامین موجود در هسته به عنوان اکیوالان احیا به متراکم شدن کروماتین و بلوغ نهایی اسپرم کمک می‌کند (۱۳). با توجه به بررسی‌های انجام گرفته، در این باره دو دلیل گزارش شده: میزان آنزیم PHGPX در اسپرم مردان نابارور نسبت به اسپرم مردان بارور کمتر بود و همراه با کاهش فعالیت آن، غلظت و حرکت اسپرم کاهش و همچنین تغییرات مورفولوژیک در آنها افزایش می‌یابد (۱۴).

نارسایی در بیان ژن آنزیم PHGPX میتو کندریایی اسپرم، می‌تواند یکی از علل الگو استنوتو اسپرمی مردان نابارور باشد (۱۵). مطالعات کروموزومی نشان داده که ژن PHGPX در ناحیه ۱۹p۱۳.۳ قرار داشته و با طول ۲.۸KB از هفت اگزون تشکیل شده است (۱۶). در برخی از مطالعات وجود جهش‌هایی در توالی ژن ۴-GPX گزارش شده که باعث کاهش سطح بیان این ژن شده که این کاهش بیان ژن در اسپرم افراد نابارور با دلیل بروز الیگو استنوتو اسپرمی مرتبط است، ولی وابستگی میان اندازه ی بیان ژن آنزیم PHGPX با نوع جهش‌های این افراد مشاهده نشده، زیرا وجود این جهش در مردان بارور نیز دیده شده است (۱۷).

حال با بررسی ژن PHGPX، وجود سه جهش در این ژن باعث اختلال در بیان این ژن شده که این سه جهش در جایگاه‌های ۶+ و ۱۷+ و ۱۷۲۵+ ژن روی می‌دهد که در هنگام وجود این سه جهش در جایگاه‌های بررسی شده، این توالی‌ها به وسیله آنزیم‌های برش دهنده مربوطه بریده نمی‌شود. همین امر نشان دهنده وجود جهش و اختلال در ژن PHGPX مردان نابارور است. بهترین روش برای بررسی این نارسایی استفاده از روش PCR-RFLP است.

منابع

1. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*. 1996;68(6):48-50.
2. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM. population study of causes, treatment,