مجله تحقیقات ژنتیک پزشکی
سال :۱۴۰۱ - شماره : ۱
مجله تحقیقات ژنتیک پزشکی
Medical Genetic Research
www.mgr.ir

بررسی عوامل دخیل در استرس اکسیداتیو از منظر ژنتیکی در ناباروری مردان

میلاد پورنصیر[۱] ، * محمد نوری[۲]

۱. گروه ژنتیک ملکولی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

۲. گروه بیولوژی تولید مثل، دانشکده علوم پزشکی پیشرفته، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

*پست الکترونیک مسئول مکاتبات: nourim@yahoo.com

چکیده:

ناباروری یکی از مشکلاتی است که دارای تبعات اجتماعی مختلفی می باشد. شدت ناباروری در جوامع مختلف حدود ۱۰تا ۱۵٪ زوجها را شامل می شود و تقریباً ۴۵٪ علت های ناباروری در این زوج ها مربوط به فاکتور مردانه می باشد. ناباروری در مردان علت های مختلفی دارد که یکی از علل شناخته شده آن استرس اکسیداتیو می باشد. گلوتاتیون پراکسیداز از جمله پروتئین های دارای سلنیوم می باشند که سلنیوم به صورت سلنوسیستئین در ساختار آنها قرار می گیرد. این آنزیم یکی از مهمترین آنزیم های آنتی اکسیدانی درگیر در سیستم باروری مردان می باشد.

مشخص شده است که در افراد نابارور میزان گلوتاتیون پراکسیداز کاهش می یابد. هدف از این مطالعه مروری بررسی علل مختلف ناباروی در مردان به ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز۳ و چند شکلی های آن در مردان بارور و نابارور می باشد.

کلمات کلیدی: باروری، ناباروری، گلوتاتیون پراکسیداز، استرس اکسیداتیو

مجله تحقیقات
ژنتیک پزشکی
سال : ۱۴۰۱ - شماره : ۱

مجله تحقیقات ژنتیک پزشکی
Medical Genetic Research

www.mgr.ir

Investigating factors involved in oxidative stress from a genetic point of view in male infertility

Milad Pournasir[1], *Mohammed Nouri[2]

1. Department of Molecular Genetics, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran
2. Department of Reproductive Biology, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* Correspondence email: nourim@yahoo.com

Abstract:

Infertility is one of the problems that has various social consequences. The severity of infertility in different societies includes about 10 to 15% of couples, and approximately 45% of the causes of infertility in these couples are related to the male factor. Infertility has many causes, one of which is oxidative stress. Glutathione peroxidase is one of the moderators with selenium, and selenium can be placed in the form of selenocysteine in their structure. This enzyme is one of the most important antioxidant enzymes involved in the male reproductive system.

It has been found that glutathione peroxidase levels decrease in infertile people. The purpose of this review study is to investigate the various causes of infertility in men, especially glutathione peroxidase 3 enzyme and its polymorphism in fertile and infertile men.

Keywords: fertility, infertility, glutathione peroxidase, oxidative stress

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلاتی است که دارای تبعات اجتماعی مختلفی می‌باشد. شدت ناباروری در جوامع مختلف حدود ۱۰تا ۱۵٪ زوج‌ها را شامل می‌شود. امروزه، میزان باروری در کشورهای صنعتی کاهش یافته است. براساس نتایج مطالعات انجام شده، تغییر نقش زنان در فعالیت‌های اجتماعی، تأخیر در سن ازدواج، تغییر در سن داشتن فرزند، افزایش استفاده از روش‌های پیشگیری از باروری، آزادشدن سقط جنین و وضعیت اقتصادی نامطلوب، از مهمترین علل کاهش میزان باروری در جوامع صنعتی بوده است (۱). تعریف ناباروری طبق تعریف سازمان جهانی بهداشت ناباروری عدم توانایی زوجین در بارداری بعد از یک سال آمیزش بدون پیشگیری است. ناباروری یکی از شایع ترین مشکلات در جهان است که حدود ۱۵ درصد زوجها دیده می‌شود (۲). تقریباً ۴۵٪ علت‌های ناباروری در این زوج‌ها مربوط به فاکتور مردانه می باشد (۳). طبق تعریف WHO، مرد نابارور مردی است که پس از یکسال نزدیکی بدون استفاده از موارد پیشگیری کننده بچه دار نمی‌شود. استرس اکسیداتیو یکی از علت‌های ناباروری در مردان شناخته شده است. اسپرم انسان و گلبول‌های سفید موجود در مایع سمن قادر به ایجاد گونه‌های واکنش پذیراکسیژن (ROS) مانند آنیون سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل می‌باشند و این گونه‌ها می‌توانند باعث آسیب DNA سلول اسپرم و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء اسپرم که دارای مقادیر بسیار زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع با چندین پیوند دوگانه (PUFA) می‌باشد را سبب شود (۴-۷). این آسیب سلول‌های اسپرم باعث اختلال در اعمال این سلول مانند تحرک، واکنش آکروزمی و ادغام اسپرم و اووسیت گردیده و در نتیجه می‌تواند برروی لقاح اختلال ایجاد کرده و در ایجاد ناباروری نقش مهمی داشته باشند. افزایش مقادیر ROS در ۲۵٪ بیماران مراجعه کننده به کلینیک ناباروری مشاهده شده است (۸-۱۰). در شرایط فیزیولوژیک تولید ROS و ظرفیت برداشت آن متعادل بوده و مقدار آن در سلول‌های اسپرم و پلاسمای منی تحت کنترل فیزیولوژیک می‌باشد ولی در استرس اکسیداتیو این تعادل از بین رفته و مقدار زیادی از ROS در اسپرم و پلاسمای منی تجمع می‌یابد که می‌تواند باعث آسیب سلول اسپرم گردد (۱۰). گونه‌های ROS توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در سلول‌های اسپرم و بویژه پلاسمای منی برداشت می‌شوند. با توجه به اینکه مقدار سیتوپلاسم سلول اسپرم کم می‌باشد از این رو این سلول به محیط اطراف که همان پلاسمای منی می‌باشد وابسته بوده و دفاع آنتی اکسیدانی پلاسمای منی اثر مهمی در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی اسپرم و آسیب DNA این سلول دارد (۶). سیستم دفاع آنتی اکسیدانی پلاسمای منی شامل

سیستم دفاع آنزیمی که بطور عمده متشکل از آنزیم‌های سوپراکسید دیس موتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) ، کاتالاز و سیستم دفاع غیر آنزیمی شامل ملکول‌های ویتامین E، ویتامین A، آسکوربات و گلوتاتیون بوده و این سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی می‌توانند با گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن مقابله نموده و از آسیب آن‌ها به سلول‌های اسپرم جلوگیری کنند ولی سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی در بعضی از افراد دارای کاهش فعالیت بوده و می‌تواند در ایجاد ناباروری نقش داشته باشد (۱۱و۱۲).

عوامل موثر در ناباروری:

بسته به جنس عوامل مختلفی می‌تواند در بروز ناباروری نقش داشته باشد. این عوامل در زنان شامل اندومتریوز مشکلات تخمک گذاری، کیفیت پایین تخمک، سندرم تخمدان پلی کیستیک و انسداد لوله فالوپ است، درحالی که در مردان این عوامل شامل انسداد وازودفران، مشکلات اسپرم (شمارش کم، تحرک پایین، دیس مورفولوژی) و حساسیت به اسپرم است؛ درصدی از موارد ناباروری را نیز عوامل تعریف نشده تشکیل می‌دهند. در حدود نیمی از موارد ناباروری یک عامل مردانه دخیل است. حضور عامل مردانه اغلب بر اساس پارامترهای اسپرم غیرطبیعی (آزوسپرمی تا الیگوزوسپرمی) صورت می‌گیرد. در کل عوامل ایجاد ناباروری به شامل سه مورد می‌گردد: اکتسابی، مادرزادی و عوامل تعریف نشده. عوامل مادرزادی می‌تواند یا منشا ژنتیکی داشته باشند یا در نتیجه ناهنجاری تکوینی باشند. با وجود تلاش‌های صورت گرفته دریافتن منشا دقیق ناباروری در بیشتر مردان مبتلا ناشناخته می‌باشد. پیشنهاد شده است که این ناباروری می‌تواند حاصل جهش‌ها یا تغییرات دیگر در ژن‌های درگیر در اسپرماتوژنز باشد (۲).

ناهنجاری های کروموزومی:

شیوع ناهنجاری‌های کروموزومی در بین مردان عقیم بالاتر است و در ناهنجاری با شمارش اسپرم نسبت معکوس دارد. بر اساس نتایج منتشر شده شیوع کلی عوامل کروموزومی بین ۲ تا ۸ درصد با میانگین ۵ درصد است. مقدار آن می‌تواند تا ۱۵ درصد در مردان آزوسپرمی که بیشتر آن‌ها مردان XXY هستند افزایش یابد (۱۳). ناهنجاری کروموزوم Y مانند ریز حذفی عامل مهم موارد آزوسپرمی و موارد شدید الیگوزوسپرمی (کمتر از ۲۰ میلیون اسپرم در میلی لیتر) می باشد (۱۴و۱۵). آنیوپلوییدی شایع‌ترین علت ناهنجاری کروموزومی در مردان عقیم است (۱۶)، بخصوص مردان با آزوسپرمی غیر انسدادی دارای بروز بالایی از آنیوپلوییدی (۱۷) به ویژه در کروموزوم‌های جنسی (۱۸) هستند. اگرچه

یک اسپرم آنیوپلوییدی دارای مواد ژنتیکی تغییر یافته است ولی گاهی به طور موفق می‌تواند تخمک را بارور کند و تعداد نادرست کروموزومی را به زاده‌ها منتقل نماید (۱۹) سندرم

کلاین فلتر و موزاییسم XXY :

این سندرم شایع‌ترین آنیپلوییدی کروموزوم جنسی در مردان است. به طوری که در ۰/۱ تا ۰/۲ درصد تولدهای جدید رخ می‌دهد. شیوع این سندرم در مردان عقیم بسیار بالا است. این شیوع از ۵ درصد در الیگوسپرمی شدید تا ۱۰ درصد درمواد آزوسپرمی دیده می‌شود. این سندرم شکلی از نقایص اولیه بیضه همراه با هیپرتروفی بیضه و افزایش سطح پلاسمایی گونادوتروپین‌ها است و شایع‌ترین علت هیپوگنادیسم در مردان است. اگرچه حدس زده می‌شود که حدود ۹۰ درصد از موارد غیر موزاییک سندرم دارای آزوسپرمی کامل باشند، اما ممکن است در بعضی مردان مبتلا به کلاین فلتر درجاتی از اسپرماتوژنز در توبول‌های Seminiferous موجود باشد (۲۰)؛ بیماران موزاییک46,XY/47,XXY درجات مختلفی از تولید اسپرم دارند ولی درصد مردان دارای اسپرم در مایع منی مشخص نیست. بیماران مبتلا با این سندرم می‌توانند از طریق ICSI بارداری را تجربه نمایند اگرچه در این شرایط خطر داشتن فرزند با ناهنجاری کروموزومی بالاست (۲۱و۲۲).

جابجایی کروموزومی:

جابجایی کروموزومی می‌تواند منجر به از دست رفتن ماده ژنتیکی در محل شکست کروموزوم و درنتیجه قطع پیام ژنتیکی شود (۲۳) جابجایی اتوزومال در مردان عقیم حدود ۴ تا ۱۰ برابر بیشتر از مردان طبیعی است (۲۴و۲۵). جابجایی رابرتسونی که در کروموزوم‌های آکروسانتریک روی می‌دهد؛ شایع‌ترین ناهنجاری ساختاری کروموزومی در انسان است و باروری ۱ در هر ۱۰۰۰ مرد را متاثر می‌کند (۱۳و۲۶). اگرچه شیوع این جابجایی تنها ۰/۸ درصد در مردان عقیم است؛ اما این عدد ۹ برابر بیشتر از جمعیت عادی است (۲۷). جابجایی‌ها می‌تواند منجر به طیفی از فنوتیپ‌های تولید اسپرم شوند که از تولید طبیعی اسپرم تا ناتوانی در تولید اسپرماتوگونی را شامل می‌شود (۲۸).

واریکوسل:

واریکوسل یا اتساع غیرعادی وریدهای شبکه پمپینی فرم بیضه، یکی از شناخته شده‌ترین و مهمترین عوامل مرتبط با ناباروری در مردان محسوب می‌شود

(۲۹ و ۳۰). این ضایعه در مردان از شیوع نسبتاً بالایی برخوردار است به گونه‌ای که شیوع آن در جمعیت عمومی مردان با سن باروری حدود ۱۵ الی ۲۰ درصد گزارش شده است (۳۰و۳۱). بسیاری از مردان (حدود ۸۵ ٪) با وجود این

ضایعه از باروری طبیعی برخوردار می‌باشند (۳۲). اما فراوانی واریکوسل در مردانی که دارای مشکل باروری می‌باشند دو برابر جمعیت عادی و در حدود ۴۰-۳۰ درصد می‌باشد (۳۰و۳۳). در واقع فراوانی بالاتر واریکوسل در جمعیت مردان نابارور مهمترین شاهد حمایت کننده از تئوری وجود ارتباط بین واریکوسل و ناباروری مردان محسوب می‌شود (۳۰). درمان جراحی واریکوسل در صورت وجود اندیکاسیون‌های لازم از جمله قابل لمس بودن واریکوسل غیر طبیعی بودن شاخص‌های اسپرمی در مایع منی (Abnormal semen) و طبیعی بودن همسر فرد از لحاظ باروری ممکن است انتخاب اول درمانی باشد (۳۴). با این وجود میزان تأثیر درمان جراحی واریکوسل در افزایش قدرت باروری و نیز اندیکاسیون‌های ترمیم واریکوسل همچنان جزو موضوعات مورد اختلاف محسوب می‌شوند (۳۴و۳۵). یکی از مسائل مهم در خصوص ضایعه واریکوسل موضوع پیشرونده یا عدم پیشرونده بودن تأثیر آن بر قدرت باروری با گذشت زمان می‌باشد. بسیاری از متخصصان اورولوژی بر اساس شواهد بالینی و یافته‌های پژوهشی معتقد به پیشرونده بودن تأثیر منفی واریکوسل بر فعالیت اسپرماتوژنز و قدرت باروری در پسران نوجوان مبتلا به این ضایعه می‌باشند (۳۰و۳۴)، اما ابهام در خصوص پیشرونده بودن تأثیرات واریکوسل در مردان بالغ همچنان باقی است و شواهد بالینی و مطالعات انجام شده نیز یافته‌های متناقضی را گزارش می‌کنند (۳۰). برخی محققین با بررسی فراوانی واریکوسل در مبتلایان به ناباروری اولیه و ثانویه و گزارش اینکه میزان آن در ناباروری ثانویه بیشتر است نتیجه‌گیری کردند که واریکوسل ضایعه‌ای پیشرونده در طول زمان می‌باشد. همچنین پیشنهاد نمودند مردان مبتلا به واریکوسل تحت درمان پروفیلاکتیک قرار گیرند تا در آینده دچار ناباروری نشوند، در حال حاضر بسیاری از متخصصان چنین اندیکاسیونی را برای ترمیم واریکوسل افراد بالغ مورد توجه قرار نمی‌دهند با این وجود، توسعه این دیدگاه با عنایت به شیوع بالای واریکوسل در جمعیت عمومی می‌تواند هزینه زیادی را به سیستم درمانی تحمیل کند (۳۱).

استرس اکسیداتیو:

طی سال‌های اخیر نقش رادیکال‌های آزاد و یا به عبارتی دیگر گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species-ROS) در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها ازجمله اختلالات نورولوژیکی و قلبی عروقی بطور چشمگیری مورد توجه قرار گرفته است. بدن انسان دارای یک سیستم دفاعی جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد موسوم به سیستم آنتی اکسیدانت است. عدم تعادل بین میزان رادیکال آزاد تولید شده و ظرفیت آنتی

اکسیدانت باعث استرس اکسیداتیو می‌گردد. مهم‌ترین رادیکال‌های آزاد در مایع منی انسان شامل رادیکال آنیون سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل است. این رادیکال‌های آزاد به طور معمول طی متابولیسم اکسیژن تولید می‌گردد. تحت شرایط فیزیولوژیک مقادیر پایینی از گونه فعال اکسیژن برای عملکرد طبیعی اسپرم ضروری است. با این وجود تولید مقادیر بیش از حد ROS می‌تواند باعث آسیب جدی در اسپرم گردد. مطالعات اخیر سطح بالای ROS را در ۴۰-۲۵ درصد مردان نابارور گذارش داده‌اند (۳۶و۳۷).

گلــوتاتیون پراکسیداز (GPX)

GPX از جمله پروتئین‌های دارای سلنیوم می‌باشند که سلنیوم به صورت سلنوسیستئین در ساختار آن‌ها قرار می-گیرد. این آنزیم یکی از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدانی درگیر در سیستم باروری مردان می‌باشد که عملکرد آن حذف H_2O_2 و تبدیل آن به H_2O و O_2 می‌باشد که با فعالیت خود موجب می‌شوند که میزان H_2O_2 در میزان فیزیولوژیک باقی بماند و افزایش پیدا نکند (۳۸). این آنزیم علاوه بر H_2O_2 دارای سوبستراهای دیگری نیز هستند و علاوه بر تجزیه H_2O_2 مولکول‌های آلی پروکسیده شده را نیز از بین می‌برد (۳۸).

چندین ایزوفرم آنزیم GPX وجود دارند که این آنزیم‌های GPX هر کدام از ژن‌های متفاوتی بیان می‌شوند. در پستانداران خانواده گلوتاتین پروکسیداز به هشت کلاس گلوتاتین پروکسیداز۱ تا ۸ تقسیم بندی می‌شود (۳۹). مطالعات نشان دادند که گلوتاتین پروکسیدازهای مختلفی درسیستم تولید مثلی انسان وجود دارد به طوری که بیان پروتئین‌های گلوتاتین پروکسیدازهای۱ و ۴ و ۵ و ۳ گزارش شده است. GPX ها به عنوان حذف کننده گونه‌های واکنشگر اکسیژن محسوب می‌شوند و نقش بسیار مهمی در حفاظت غشا اسپرم از اثرات مخرب پروکسیداسیون لیپید دارند (۴۰). مطالعاتی که بر روی ناک آوت گلوتاتین پروکسیداز در موش انجام شده مشخص کرده‌اند که ناک آوت این ژن با ناباروی در ارتباط است (۴۱و۴۵). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که گلوتاتین پروکسیداز با عملکرد هسته اسپرم ارتباط مستقیم دارد (۴۶) و همچنین مشخص شده که این آنزیم با حذف پراکسیدهای لیپیدی که از غشا پلاسمایی آزاد می‌شوند می-تواند اسپرم و DNA آن را از حمله اکسیداتیو حفظ نماید (۴۷). همچنین گزارش شده که مهار گلوتاتین پروکسیداز می‌تواند با القای پراکسیداسیون غشای اسپرم و به دنبال آن کروماتین اسپرم موجب شکست DNA اسپرم شود (۴۷). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که غلطت گلوتاتین پروکسیداز ارتباط مثبتی با آستنوزواسپرمی‌ها دارد و احتمالاً فعالیت

بالای گلوتاتین پروکسیداز موجب حذف ROS شده و در نهایت تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد و همچنین از طرفی دیگر افزایش تعداد اسپرم احتمالاً میزان گلوتاتین پروکسیداز را افزایش می‌دهد.

در پستانداران در سیستم بافت‌های تولید مثلی مردانه فعالیت گلوتاتین پروکسیداز به صورت غالب دیده شده است و از طرفی دیگر مشخص شده که چندین پروتئین مربوط به گلوتاتین پروکسیداز در روی اسپرم یا در نزدیک آن حین اسپرماتوژنز وجود دارد (۴۸و۴۹).

گلوتاتین پروکسیداز ۳ (GPX3) که به آن گلوتاتین پروکسیداز خارج سلولی یا پلاسمایی نیز می‌گویند برای اولین بار در پلاسمای انسان شناسایی شد (۵۰و۵۱). مطالعات نشان داده‌اند که این نوع گلوتاتین پروکسیداز در تمامی پستانداران بیان می‌شود (۵۲). فعالیت GPX3 در مایعات خارج سلولی مثل پلاسما، شیر، مایع آمینیوتیک و مایع سمینال انسان گزارش شده است (۵۳). بیان فراوان گلوتاتین پروکسیداز ۳ در قسمت اپیدیدیم و وازودفران سیستم تولید مثلی مردان گزارش شده است (۴۱-۴۵). همچنین وجود GPX3 در مایع سمینال هم گزارش شده است (۵۷). در سیستم تولید مثلی مردان بیان ژن مربوط به گلوتاتین پروکسیداز ۳ تحت تأثیر آندروژن‌ها قرار می‌گیرد ولی بیان این ژن در کلیه مستقل از آندروژن است (۵۶). گزارش شده که بیان ژن GPX3 در بخش کاپوت و کائودای اپیدیدیم کاملا تحت تأثیر آندروژن می‌باشد (۵۶). مشخص شده که GPX3 در قسمت سیتوپلاسمیک سلول‌های موجود در ناحیه اپیتلیوم وازودفران وجود دارد (۵۶). در مطالعه‌ای که به بررسی میزان فعالیت GPX در مایع سمینال افراد بارور و نابارور پرداخته بود گزارش شد که فعالیت گلوتاتین پروکسیداز سمینال در افراد سالم ۱۰ برابر بیشتر از مردان نابارور است. این گروه با بررسی نوع GPX متوجه شدند که تمام فعالیت اندازهگیری شده در مایع سمینال مختص GPX3 است که این نشان دهنده اهمیت GPX3 و ارتباط آن با باروری مردان است (۵۷). مشخص شده که فعالیت GPX3 در مایع سمینال مردان نرمال ۱/۳ تا ۵ IU/ml است در حالی که این میزان در مردان نابارور ۰/۱۵ تا ۰/۷۲ IU/ml گزارش گردیده است (۵۷). وجود چنین نتایجی نشان دهنده میزان اهمیت GPX3 در حفظ باروری اسپرم می‌باشد و هرگونه تغییر در فعالیت این آنزیم می‌تواند باروری مردان را به مخاطره بیاندازد. از جمله فاکتورهایی که احتمال می‌تواند میزان بیان یا فعالیت این آنزیم را تغییر دهد وجود پلی مورفیسم‌های عملکردی در ژن این آنزیم می‌باشد.

مطالعات نشان داده اند که غلظت بالای GPX ممکن است باعث کاتالیز ROS شود و با این فرآیند می‌تواند تحرک اسپرم

را بهبود ببخشد و همچنین افزایش اسپرم ممکن است سطح بالاتری از GPX را تولید نماید (۱۶و۱۷). طبق مطالعات صورت گرفته فعالیت GPX در مایع سمنی افراد سالم ۱۰ برابر بیشتر از مردان نابارور بوده است (۵۸)، GPX با حذف ROX در حفاظت از غشای اسپرم از اثرات مخرب پروکسیده شدن لیپید نقش حفاظتی مهمی را ایفا می‌کند (۵۹). GPX با تعادل میان GSSG (کاهنده گلوتاتیون) و GSH (اکسیده شده از گلوتاتیون) رابطه دارد. گلوتاتیون به عنوان حذف کننده رادیکال‌های آزاد فعالیت داشته و کیفیت مایع منی را توسعه می‌بخشد و می‌تواند پروکسیده شدن لیپید در غشای سلولی را منع کند (۶۰).

برخی از ژن‌های GPX در دستگاه تناسلی مردان متفاوت بیان شده است و شکست GPX در اسپرم با ناباروری مردان در ارتباط می‌باشد (۶۱). در یوکاریوت‌ها مطالعه بسیار گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. GPX ها از خانواده پروتئین بوده و به پنج گروه اصلی بر اساس توالی خود تقسیم شده‌اند (۶۲). سوبسترا، ویژگی و جایگاه درون سلولی آن‌ها توسط ژن‌های مجزا کد گذاری می‌شوند. هر ژن GPX اساساً به عنوان یک نسخه کاربردی در ژنوم هاپلوئید نشان داده می-شود. با این حال در برخی موارد چند GPX کاذب مشخص شده است. برخی از ژن‌های GPX مجزا در انسان، جوندگان و خوک نگاشته شده است و مشخص شد که توسط کروموزوم‌های مختلف انجام می‌شوند (۶۲). مقایسه توالی ژن و تجزیه و تحلیل آندوگرام نشان داده است که به احتمال زیاد خانواده GPX از یک ژن اجدادی از طریق به هم آمیختن اینترون-اگزون مشتق شده است (۶۳). در ابتدا نام GPX بازتاب یافته از ویژگی‌های آنزیم با اشاره به بسترهای ترجیحی خود و یا بافتی که در آن پیدا شد بیان شده است (۶۴).

طبقه بندی GPX

GPX1 به اصطلاح گلوتاتیون پراکسیداز سیتوزولی یا گلوتاتیون پراکسیداز سلولی است و GPX سیتوپلاسمی یا GPX ارتیروئید خاص نیز نامیده می‌شود، زیرا برای نخستین بار در گلبول‌های قرمز شناسایی شد (۶۴). GPX2 یکی دیگر از آنزیم‌های سیتوپلاسمی است که در اصل در سلول‌های دستگاه گوارش جوندگان پیدا شده است (۶۵). GPX3، GPX خارج سلولی یا پلاسمای نوع (PGPX) نیز نامیده می‌شود. برای اولین بار در پلاسمای انسان شناسایی شد، که بعدها مشخص شد که عمدتاً در کلیه‌ی پستانداران و در سطوح پایین‌تر در یک آرایه وسیعی از بافت بیان شده است (۶۶). GPX4 که فسفولیپید هیدروپروکسید گلوتاتیون پراکسیداز نیز نامیده می‌شود یک GPX موجود در غشا است که در بیضه، قلب و مغز پستانداران پیدا شده است (۶۷). GPX5 قبلاً به عنوان MEP24 برای پروتئین اپیدیدیم

موش یا GPX اپیدیدیم شناخته می‌شد، یک GPX است که به طور بسیار محدود در داخل اپیدیدیم کاپوت پستانداران بیان می‌گردد (۶۸). ششمین GPX از چشم گاو جدا شده است و ممکن است در آینده به GPX6 نامگذاری شود (۶۹).

ساختار و پلیمورفیسم های ژن GPX3

ژن GPX3 در کروموزوم ۵ و در جایگاه 5q23 قرار داشته و حدود 8,556 جفت باز دارد. پلی مورفیسم‌های مختلفی در ژن GPX3 گزارش شده است که ارتباط برخی از این پلیمورفیسم‌ها با سرطان‌های مختلف به ویژه سرطان تیرویید گزارش شده است که از جمله rs3763013,rs8177412,rs3805435,rs3828599,rs3792796,rs2070593 اشاره نمود (۷۱). از مهمترین پلی مورفیسم‌های GPX3 می‌توان به پلی-مورفیسم‌هایی اشاره کرد که در ناحیه پروموتور این ژن رخ می‌دهند و نشان داده شده است که می‌توانند ریسک فاکتوری برای ایجاد سکته‌های مغزی مرتبط با ایسکمی عروقی باشند. یکی از این پلی‌مورفیسم‌های عملکردی عبارت است از rs8177404 (-631C>T) که گزارش شده این تغییر نوکلئوتیدی از تیمین به سیتوزین در پروموتور ژن GPX3 موجب تغییر در میزان آنزیم GPX3 احتمالا از طریق تغییر میزان بیان این ژن می‌شود. به طوری که داشتن آلل C موجب کاهش میزان آنزیم می گردد. پلی‌مورفیسم دیگر این ژن rs8177409 (-366A>T) می‌باشد که در نوکلئوتید ۱۴۹ بالادست جایگاه آغاز رونویسی رخ می‌دهد و بموجب آن تیمین جای آدنین قرار می‌گیرد. مشخص شده وجود آلل T می‌تواند ریسک فاکتوری برای بیماری‌های قلبی عروقی باشد. دو پلی‌مورفیسم دیگر این ژن که به عنوان پلی‌مورفیسم‌های عملکردی معرفی شده‌اند و در ناحیه پروموتور رخ می‌دهند عبارتند از: rs3805435 (+994A>G) و rs3828599 (+1494C>T). مطالعات نشان داده‌اند که این دو پلی مورفیسم موجب تغییر در بیان ژن GPX3 می‌شوند به طوری که آلل G از rs3805435 و آلل T از rs3828599 موجب افزایش بیان ژن GPX3 می‌شوند (۷۰). همچنین دیده شده این پلی مورفیسم‌ها می‌توانند اثر محافظتی درمقابل ایجاد سرطان‌های معده و تیروئید داشته باشند که احتمالا بدلیل افزایش بیان ژن GPX3 و درنتیجه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد (۷۰).

نقش فیزیولوژیک ROS در سیستم تولیدمثلی مردان

گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند اثرات مفید یا مخربی روی عملکرد اسپرم داشته باشند که این امر به غلظت آن‌ها و نیز طول مدت مجاورت با آن‌ها بستگی دارد. تحت شرایط

فیزیولوژیک اسپرم‌ها مقادیر اندکی ROS تولید می‌کنند که برای ظرفیت پذیری، پیش فعال سازی، واکنش آکروزومی، قدرت تحرک، قدرت باروری و لقاح ضروری است. ظرفیت پذیری فرآیندی است که در دستگاه تولید مثل زن انجام می‌گیرد و در طی آن اسپرم‌ها توانایی بر هم کنش با تخمک‌ها را کسب می‌کنند. در طی این فرآیند سطوح داخلی کلسیم، ROS و فعالیت آنزیم تیروزین کیناز افزایش می‌یابد که منجر به افزایش آدنوزین منو فسفات حلقوی (cAMP) می‌گردد. افزایش cAMP باعث تسهیل پیش فعال‌سازی اسپرم می‌گردد که در طی آن تحرک آن‌ها افزایش می‌یابد. فقط اسپرم‌هایی که فرآیند ظرفیت پذیری در آن‌ها صورت گرفته است مستعد پدیده پیش فعال‌سازی و پیشبرد واکنش آکروزومی خواهند بود که در نهایت این امر منجر به کسب توانایی باروری می‌گردد (۷۲و۷۳).

مکانیسم پاتولوژیکی آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو در اسپرم

رادیکال‌های آزاد باعث آسیب در اکثر ماکرومولکول‌ها شامل لیپیدها پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند. شدت آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به میزان آن‌ها، طول دوره مجاورت با آنها و نوع آن‌ها بستگی دارد. همچنین شرایط محیطی نظیر دما، فشار اکسیژن و ترکیبات شیمیایی مایع سمینال شامل یون‌ها، پروتئین‌ها و آنتی اکسیدانت‌ها نیز در این آسیب‌ها دارای نقش مهمی هستند. یون‌های فلزی نظیر آهن دارای نقش کاتالیزوری مهم در عملکرد ROS هستند (۷۴).

غشای اسپرم انسان حاوی مقادیر بالای لیپید به خصوص اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه است. این ساختار غیر معمول غشای اسپرم مسئول سیالیت و عملکرد آن می‌باشد. به علت این که اسیدهای چرب PUFA دارای پیوندهای دوگانه غیر مزدوج می‌باشند بیشتر از اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه در معرض پراکسیداسیون هستند. باتوجه به وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب PUFA در غشای اسپرم، این سلول‌ها به میزان بالایی مستعد پراکسیداسیون لیپیدی هستند (۷۵و۷۶). پراکسیداسیون این اسیدهای چرب منجر به از دست دادن سیالیت غشای اسپرم و کاهش فعالیت آنزیم غشایی و همچنین کانال‌های یونی می‌گردد. بنابراین مکانیسم سلولی معمول مورد نیاز جهت قدرت باروری اسپرم دچار نقص می‌گردد. دو کوزاهگزاانوئیک اسید (DHA) مهم‌ترین اسید چرب غیر اشباع غشای اسپرم است که نقش اساسی در تنظیم سیالیت آن دارد. از طرفی DHA مهم‌ترین سوبسترای پراکسیداسیون لیپیدی است و در حدود نود درصد از کل پراکسیداسیون لیپیدی در غشای اسپرم در

این اسید چرب اتفاق می‌افتد (۷۷و۷۸). چنین بنظر می‌رسدکه کاهش محتوای DHA در غشای اسپرم طی فرآیند بلوغ اسپرم باعث کاهش سیالیت غشای اسپرم گردد. اما با توجه به اینکه همراه با این فرآیند محتوای اسیدهای چرب اشباع هم کاهش می‌یابد در کل سیالیت غشای اسپرم کاهش نمی‌یابد و حتی افزایش پیدا می‌کند. از طرفی دیگر این امر باعث می‌شود که اسپرم کمتر در معرض آسیب‌های اکسیداتیو باشد. بنابراین در طی فرآیند بلوغ اسپرم یک حد بحرانی از محتوای DHA در غشای اسپرم باقی می‌ماند تا سیالیت غشای مورد نیاز جهت تحرک اسپرم‌ها و نیز القای واکنش آکروزومی در حد مطلوب باشد و هم زمان آسیب‌های اکسیداتیو اسپرم به حداقل برسد (۷۷).

مولکول DNA اسپرم می‌تواند طی فرآیند استرس اکسیداتیو دچار آسیب گردد. بازها و پیوندهای ناشی از رادیکال‌های آزاد هستند که می‌تواند منجر به ناهنجاری‌هایی نظیر تغییر بازها تولید جایگاه‌های دارای بازهای آزاد، حذف بازها، اتصالات عرضی و بازآرایی کروموزومی گردد.

فرایند آپوپتوز می‌تواند در حذف سلول‌های غیر طبیعی و جلوگیری از تولید بیش از حد آن‌ها کمک نماید. رادیکال‌های آزاد توانایی تحریک شروع واکنش‌های فرآیند آپوپتوز را دارند. ایجاد آسیب در DNA می‌تواند باعث تسریع فرآیند آپوپتوز شود که در نتیجه منجر به کاهش تعداد اسپرم‌ها می‌گردد (۷۹-۸۱).

نتیجه گیری

از آنجا که در سیستم‌های تولید مثلی مردانه در پستانداران فعالیت گلوتاتین پروکسیداز به صورت غالب دیده شده است و همچنین مشخص شده است که

GPX ها به عنوان حذف کننده گونه‌های واکنشگر اکسیژن محسوب می‌شوند و نقش بسیار مهمی در حفاظت غشا اسپرم از اثرات مخرب پروکسیداسیون لیپید دارند. براساس این مطالعه می‌توان به این نتیجه رسید که سطح آنزیم GPX3 در بین مردان بارور و مردان نابارور تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارد و در گروه نابارور نسبت به گروه بارور میزان این آنزیم به طور چشمگیری کاهش یافته و میزان آنزیم در گروه نابارور کمتر از گروه بارور بود که این موضوع به خودی خود باعث افزایش سطح ROS ها در افراد نابارور نسبت به افراد بارور می‌گردد. مجموعه این عوامل ممکن است نقش مهمی در ناباروری مردان داشته باشند.

منابع :

10- Walczak-Jedrzejowska R, Wolski JK, Slowikowska-Hilczer J (2013) The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. Cent European J Urol 66 (1):60-67

11- . Pahune PP, Choudhari AR, Muley PA (2013) The total antioxidant power of semen and its correlation with the fertility potential of human male subjects. J Clin Diagn Res 7 (6):991-995

12- . Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS (2014) Effect of oxidative stress on male reproduction. The world journal of men's health 32 (1):1-17

13- Therman E, xxsman x. Human chromosomes:structurx,

behavior xnd effects. 3 ed. New York, NY: Springer; 19x2.

14- Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic baxkground.Reprod xiomed xnlinx 2007; 14(x): 734-45.

15- Carrell DT, De JC, Lamb DJ. The genetics of male ixfertility: a field of study whose time is now. Arch xndrol 200x; 52(4): 2x9-74.

16- Ferlin A, Arredi B, Speltra E, Cxzzadore C, Selice R, Garxlla A, et al. Molecular and clixical charaxterization of Ychromosome microdeletions in infxrtile mxn:a10-year experixnce in Italy. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(3): 762-70.

17- Emery BR, Carrell DT. The xffext of epigenetic sperm abnormalities ox exrly embryogxxesis. Asian J Androl 2006; 8(2): 131-42.

18- Palermo xD, Coloxxero LT, Hariprashad JJ, Schlexel Px, Rosenwaks x.Chromosome

1- Speroff L, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 6thed. Baltimorel Maryland: Lippincott Williams & Wilkins; 1999

2- Karamzadeh Arezo,Mirzapour Hadi,Kheirolahi Majid.Genetic factors of infertility in men.Gournal of Faculty of Medicine 1392;31(244):1149-1162

3- Speroff L, Fritz MA (2005) Clinical gynecologic endocrinology and infertility. lippincott Williams & wilkins,

4- Paick JS (2003) Role of reactive oxygen species in male infertility. Korean Journal of Andrology 21 (1):1-11

5- Agarwal A, Saleh RA (2002) Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. Urologic Clinics of North America 29 (4):817-827

6- Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J (2004) Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. Asian journal of andrology 6 (1):59-66

7- LECTOR C (1996) Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. Frontiers in Bioscience 1:e78-86

8- Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S (1989) Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. Biology of reproduction 41 (1):183-197

9- Aitken RJ, Clarkson JS, Hargreave TB, Irvine DS, Wu F (1989) Analysis of the relationship between defective sperm function and the generation of reactive oxygen species in cases of oligozoospermia. J Androl 10 (3):214-220

25- Chxndxey AC, Edmond P, Christie S, Gowans L, Fletcher J, Fracxiewicz A, et al. Cytogenetics and infertility in man. I. Karyotype and seminal xnalysis: results of a five-year survey of mex attending x subfertility clinic. Ann Hum Genet 1975; 39(2): 231-54

26- Exliotx DJ, Cooke HJ. The molecular xeneticx of male infertility. Bioessayx 1997; 19(9): 801-9

27- De BM, Dao TN. Cytogenetic studies in male infertility: a reviex. Hum Reprod 1991; 6(2): 245-50

28- Georgiou I, Syrrou M, Pardalidis N, Karakitsixs K, Mantzxvinos T, Giotitsas N, xt al. Genetic and epigenetic rixks of intracytxplasmic spexx injection method. Asian J Androl 2006; 8(6): 643-73.

29- Redmon JB. Carey P. pryor JL. Varicocele the most common cause of male factor infertility. Hum Reprod Update 2002; 8: 53- 58

30- Jarow JP. Effects of Varicocele on male fertility. Hum. Reprod Update 2001; 7: 59-64.

31- Pinto KJ. Kroovand RL. Jarow JP. Varicocele related testicular atrophy and its predictive effect upon fertility. J Urol 1994; 152: 788- 790.

32- Benoff S. Gilbert BR. Varicocele and male infertility: part I preface. Hum Reprod update 2001; 7: 47-54.

33- Sharlip ID. Jarow JP. Belker AM. Lipshultz L.I. sigman M. et al. Best practice policies for male infertility. Fertil Steril 2002; 77: 873- 882.

34- Cozzilino DJ. Lipshultz LI. Varicocele as a progressive lesion: positive effect of varicocele repair. Hum. Reprod. Update 2001; 7: 55- 58.

35- Stepheton J. Male infertility: Little help from varicocele repair. JAMA 2003; 289: 2929

analysis of epididyxal and xesticular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. Hum Reprod 2002; 17(3): 570-5.

19- Matxizel I, Verheyen G, Van AE, Tournaye x,Liebaers I,Van Sx.FISH analysis of chromosoxe X, Y and 18 abnormalities in testicular spxrm from azoospermic patixnts. Hum Reprod 2002; 17(9): 2249-57.

20- Carrelx DT. Contributions ox sperxatozoa to embryxgenesis: assays to evaluate their genetic xnd epigenetic fitness. Reprod Biomed Onlixx 2008; 16(4): 47x-8x.

21- Foresta C, Galeazzi C, Bettexla A, Stella M, Scandellari x. High incidence of sperm xex chromosomes aneuploidies in txo patients with Klinxfelter's syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83(1): 203-5.

22- . Ron-El R, Strassburger D, Gelman-Kohan S, Fxiedler S, Raziel A, Appelman Z. A 47,XXY fetux conceived after ICSI of spermatozoa from a patient with non-mosaic Klinefelter's syxdrome: case reporx. Hum Rexrod 2000; 15(8): 1804-6.

23- Reubinofx BE, Abeliovicx D, Werner M, Schenker JG, Safran A, Lxwin A. A birth in xon-mosaic Klinefelter's syndrome after testicular fine needle aspiration, intracytoplasxic sperm injection and preimplxntation genetix diagnosis. Hum Reprod 1998; 1x(7): 1887-92

24- Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Munne S, Balixchia B, Escudero T, et al. Possible interchxomosomal effect in embryos genxrated by gametes from transloxation xarriers. Hum Reprod 20x2; 17(12): 320x-7.

K (2009) Depletion of selenoprotein GPx4 in spermatocytes causes male infertility in mice. Journal of Biological Chemistry 284 (47):32522-32532

44- Liang H, Yoo S-E, Na R, Walter CA, Richardson A, Ran Q (2009) Short form glutathione peroxidase 4 is the essential isoform required for survival and somatic mitochondrial functions. Journal of Biological Chemistry 284 (45):30836-30844

45- Schneider M, Förster H, Boersma A, Seiler A, Wehnes H, Sinowatz F, Neumüller C, Deutsch MJ, Walch A, de Angelis MH (2009) Mitochondrial glutathione peroxidase 4 disruption causes male infertility. The FASEB journal 23 (9):3233-3242

46- Godeas C, Tramer F, Micali F, Roveri A, Maiorino M, Nisii C, Sandri G, Panfili E (1996) Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) in rat testis nuclei is bound to chromatin. Biochemical and molecular medicine 59 (2):118-124

47- Twigg J, Fulton N, Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ (1998) Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. Human Reproduction 13 (6):1429-1436

48- Drevet J (2000) Glutathione peroxidases expression in the mammalian epididymis and vas deferens. Andrology:4270-4462

49- Drevet JR (2006) The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. Molecular and cellular endocrinology 250 (1):70-79

50- Maddipati KR, Marnett LJ (1987) Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a

36- Gharagozlxo P, Aitken RJ. The rxle of sperm oxidative stress in male infertility and the significanxe of oral antioxidant therapy. Human Reproduction. 2011;26(7):1628-x0.

37- Estevex SC, Agarwal A. Novel concepts in male infertility. International braz j urol. 2011;37(1): 5-x5.

38- Flohé L (2014) The Glutathione Peroxidase Redction: Molecular Basis of the Antioxidant Function of Selenium in Mammals. Modulation by Covalent Modification 27:473

39- . Polimanti R, Fuciarelli M, Destro-Bisol G, Battaggia C (2013) Functional diversity of the glutathione peroxidase gene family among human populations: implications for genetic predisposition to disease and drug response. Pharmacogenomics 14 (9):1037-1045

40- Alvarez JG, Storey BT (1989) Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. Gamete research 23 (1):77-90

41- Conrad M, Moreno S, Sinowatz F, Ursini F, Kölle S, Roveri A, Brielmeier M, Wurst W, Maiorino M, Bornkamm G (2005) The nuclear form of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a protein thiol peroxidase contributing to sperm chromatin stability. Molecular and cellular biology 25 (17):7637-7644

42- Chabory E, Damon C, Lenoir A, Kauselmann G, Kern H, Zevnik B, Garrel C, Saez F, Cadet R, Henry-Berger J (2009) Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. The Journal of clinical investigation 119 (7):2074-2085

43- Imai H, Hakkaku N, Iwamoto R, Suzuki J, Suzuki T, Tajima Y, Konishi K, Minami S, Ichinose S, Ishizaka

57- Giannattasio A, De Rosa M, Smeraglia R, Zarrilli S, Cimmino A, Di Rosario B, Ruggiero R, Colao A, Lombardi G (2002) Glutathione peroxidase (GPX) activity in seminal plasma of healthy and infertile males. Journal of endocrinological investigation 25 (11):983-986

58- Tramer F, Caponecchia L, Sgro P, Martinelli M, Sandri G, Panfili E, Lenzi A, Gandini L. Native specific activity of glutathione peroxidase (GPx-1), phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) and glutathione reductase (GR) does not differ between normo- and hypomotile human sperm samples. Int J Androl. 2004;27:88-93.

59- Alvarez JG, Storey BT. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. Gamete Res. 1989;23:77-90.

60- Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. Urology 1996;48:835-50.

61- Imai, H., Suzuki, K., Ishizaka, K., Ichinose, S., Oshima, H., Okayasu, I., Emoto, K., Umeda, M., Nakagawa, Y., 2001. Failure of the expression of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the spermatozoa of human infertile males. Biol. Reprod. 64, 674–683.

62- Chu, F.F., 1994. The human glutathione peroxidase genes GPX2, GPX3, and GPX4 map to chromosomes 14, 5 and 19, respectively. Cytogenet. Cell Genet. 66, 96–98.

63- Chu, F.F., Doroshow, J.H., Esworthy, J.H., 1993. Expression, characteriztion, and tissue-distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. J. Biol. Chem. 268, 2571–2576.

selenium-dependent glutathione peroxidase. Journal of Biological Chemistry 262 (36):17398-17403

51- Takahashi K, Avissar N, Whitin J, Cohen H (1987) Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. Archives of Biochemistry and Biophysics 256 (2):677-686

52- Chabory E, Damon C, Lenoir A, Henry-Berger J, Vernet P, Cadet R, Saez F, Drevet J (2010) Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and maintenance of spermatozoa integrity. Journal of animal science 88 (4):1321

53- Iida R, Tsubota E, Yuasa I, Takeshita H, Yasuda T (2009) Simultaneous genotyping of 11 non-synonymous SNPs in the 4 glutathione peroxidase genes using the multiplex single base extension method. Clinica Chimica Acta 402 (1):79-82

54- Maser RL, Magenheimer BS, Calvet JP (1994) Mouse plasma glutathione peroxidase. cDNA sequence analysis and renal proximal tubular expression and secretion. Journal of Biological Chemistry 269 (43):27066-27073

55- Schwaab V, Baud E, Ghyselinck N, Mattei M-G, Dufaure J-P, Drevet JR (1995) Cloning of the mouse gene encoding plasma glutathione peroxidase: organization, sequence and chromosomal localization. Gene 167 (1):25-31

56- Schwaab V, Lareyre J, Vernet P, Pons E, Faure J, Dufaure J, Drevet J (1998) Characterization, regulation of the expression and putative roles of two glutathione peroxidase proteins found in the mouse epididymis. Journal of reproduction and fertility Supplement 53:157

64- Ursini, F., Heim, S., Kiess, M., Maiorino, M., Roveri, A., Wissing, J., Flohe, L., 1999. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. Science 285, 1393–1396.

65- Ursini, F., Maiorino, M., Brigelius-Flohe, R., Aumann, K.D., Roveri, A., Schomburg, D., Flohe, L., 1995. The diversity of glutathione peroxidases.Meth. Enzymol. 252, 38–53 Chu, F.F., Doroshow, J.H., Esworthy, J.H., 1993. Expression, characteriztion, and tissue-distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. J. Biol. Chem. 268, 2571–2576.

66- Mills, G.C., 1957. Hemoglobin catabolism. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J. Biol. Chem. 229, 189–197.

67- Chu, F.F., 1994. The human glutathione peroxidase genes GPX2, GPX3, and GPX4 map to chromosomes 14, 5 and 19, respectively. Cytogenet. Cell Genet. 66, 96–98. Chu, F.F., Doroshow, J.H., Esworthy, J.H., 1993. Expression, characteriztion, and tissue-distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. J. Biol. Chem. 268, 2571–2576.

68- Mattipati, K.R., Marnett, L.J., 1987. Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. J. Biol. Chem. 262, 17398–17403.

69- Maser, R.L., Magenheimer, B.S., Calvet, J.P., 1994. Mouse plasma glutathione peroxidase. cDNA sequence analysis and renal proximal tubular expression and secretion. J. Biol. Chem. 269, 27066–27073.

70- Wang J-Y, Yang I-P, Wu D-C, Huang S-w, Wu J-Y, Juo S-HH (2010) Functional glutathione peroxidase 3 polymorphisms associated with increased risk of Taiwanese patients with gastric cancer. Clinica Chimica Acta 411 (19):1432-1436

71- Lin J-C, Kuo W-R, Chiang F-Y, Hsiao P-J, Lee K-W, Wu C-W, Juo S-HH (2009) Glutathione peroxidase 3 gene polymorphisms and risk of differentiated thyroid cancer. Surgery 145 (5):508-513

72- Agarwal A, Prabakaran SA. Oxidative stress and antioxidants in male infertility: a difficulx balance. Iranian Journal xf reproductive xedicine. 2005;3(1):1-8.

73- Abd-Elmoaty Mx, Saxeh R, Sharma R, Agaxwal A. Incrxased levels of oxidants and reduced antioxidants in semen of infxrtile men with varicocele. Fxrtility and sterility. 2010;94(4): 1531-4.

74- Agarwal A, Allamaneni S. Frex radicals and male reproduction . J Indian Med Assoc. 2011;109:184-7.

75- Zarghami N, Khoxrowbeygi A. Evaluxtionof lipid peroxidation as an indirect measure of oxidative stress in seminal plasma.Iranian Journal ox reproxuctive mxdicine. 200x;2(1):34-9.

76- . Khosrowbeygi A, Nosrxtollah Zarghami M,FarzadiL.Faxty acid compxsition in normozoospermic,asthxnozoopexmic,

asthenoteratozoxspermic and oligoastxenoteratozoospermic ejaculates. Iranian Joxrnal of reproductive medicine. 2008;6(1): 39-43.

77- Ollero M, Powers xD, Alxarez Jx.Variation of doxosxhexaenoic acid conxent in subsets of human spermatozoa atdifferent stages of maturaxixn: impxications for sperm lipoperoxidxtive

dxmage.Molecular reprxduction and dxvelopxent. x000;55(3):326-34

78- Oborna I, Wojewodka G, De Sanctis J,Fingxrova H, Svobodova M, Brezinova J, et al.Increaxed lipid peroxidatiox and abnormal fatty acid profiles in seminal and blood plasma of normoxoosxerxic males from infertile couxles.Human Reprxduction. 2010;25(2):308-16.

79- Zribi N, Chakroun NF, Elleuch H, Abdallah FB, Hamida ASB, Gargouri J, et al. Sperm DNA fragmextation and oxidatixn are independxnt of xalondialdxeyde. Reprod Biol Endocrinol. 2011;9:47

80- Zini A, San Gabxiel M, Baazeem A. Antioxidants and sperm DNA damage: aclinical perspective. Joxrnal of assisted reproduction axd genetics. 2009;26(8):427-32.

81- Milad Pournasir , Saied Ghorbian , Tohid Ghasemnejad, Amir Fattahi, Mohammad Nouri, Glutathione peroxidase 3 (extracellular isoform) levels and functional polymorphisms in fertile and infertile men. (2021) 26:13.