مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز T1 وM1 و الیگواسپرمی شدید

الهه فتاحی[1]، کیومرث صفی‌نژاد*[2]، محمدرضا مهرابی[3]

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۰۹/۰۳

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: فاکتورهای مردانه عامل ۲۰ تا ۵۰ درصد موارد ناباروری بوده و ناباروری مردانه با علل آزواسپرمی و الیگواسپرمی با برخی ریسک فاکتورهای ژنتیکی مرتبط می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز T1 و M1 و الیگواسپرمی شدید می‌باشد.

مواد و روش کار: نوع مطالعه موردی-شاهد بوده و در این مطالعه ۱۰۳ نفر شامل ۵۱ مرد مبتلا به الیگواسپرمی شدید و ۵۲ مرد بارور به‌عنوان کنترل انتخاب شدند. الیگواسپرمی شدید به‌صورت غلظت کم‌تر از ۵×۱۰^{۶}اسپرم در یک میلی‌لیتر مایع منی تعریف می‌شود. نمونه‌های خون بیماران و افراد سالم جمع‌آوری‌شده و برای استخراج دئوکسی ریبونوکلئیک اسید ژنومی (DNA) مورداستفاده قرار گرفت. پلی‌مورفیسم‌ها به‌وسیله فن واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه (Multiplex PCR) بررسی‌شده و داده‌ها به‌وسیله آزمون مربع کای، آزمون دقیق فیشر و آزمون t مستقل مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند و $P<0.05$ ازنظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: ژنوتیپ‌های نول GSTT1 و GSTM1 در مردان نابارور مبتلا به الیگواسپرمی شدید (GSTT1=41.18% and GSTM1=27.45%) فراوانی بیشتری نسبت به مردان بارور (GSTT1=13.46% and GSTM1=9.62%) نشان دادند.

بحث و نتیجه‌گیری: تفاوت‌های حاصله ازنظر آماری معنی‌دار بودند. نتایج این مطالعه تأثیر مثبت ژنوتیپ‌های نول GSTT1 و GSTM1 روی فرآیند اسپرم‌زایی را نشان داد.

کلیدواژه‌ها: گلوتاتیون اس ترانسفراز، GSTM1،GSTT1، الیگواسپرمی شدید

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره دهم، ص ۸۵۱-۸۴۴، دی ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: بروجرد، میدان مدرس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، تلفن: ۰۶۶۴۲۵۱۸۰۰۱

Email: q_safinejad@yahoo.com

مقدمه

براساس تعریفی از سازمان بهداشت جهانی، (WHO) ناباروری شکست در تلاش یک زوج برای باروری بدون پیشگیری، پس از یک سال است (۱۷). امروزه ناباروری به‌عنوان یک مسئله مهم جهانی، سلامت تولیدمثلی حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد از زوجین را متأثر نموده که حداقل در میان ۵۰ درصد از آن‌ها، فاکتورهای مردانه به‌عنوان مهم‌ترین عامل ناباروری منجر به زوال و به‌هم‌ریختگی کیفیت مایع منی می‌گردند (۲-۲۱). ازنظر آسیب‌شناسی اگرچه عوامل زیادی برای آسیب به باروری مردان وجود دارد ولی در میان حدود ۳۰ درصد از آن‌ها، هنوز هم دلیل اصلی این ناباروری شناسایی نشده است و ازاین‌رو این نوع نارسایی را تحت عنوان ناباروری ناشناخته می‌دانند (۱۴)، بااین‌وجود محققین بر این باورند که آسیب به ترکیبات ژنتیکی اسپرماتوزوآ نقش بسیار حیاتی را در باروری جنس مذکر بازی می‌کند تا آنجایی که اظهار می‌دارند، هرگونه نقص در این ترکیبات می‌تواند، ازجمله دلایل اصلی ناباروری در مردان باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که بعضی پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی با آسیب به روند اسپرماتوژنزیس در مردان نابارور همراه بوده و می‌تواند منجر به اختلاتی همچون الیگواسپرمی و آزوسپرمی ناشناخته شود (۱۳). طبق معیارهای سازمان بهداشت جهانی تعداد اسپرم

[1] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

[2] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران (نویسنده مسئول)

[3] استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

کمتر از ۲۰ میلیون در هر میلی‌لیتر را الیگواسپرمی[1] تحرک کمتر از ۵۰ درصد را آستنواسپرمی[2] و ریخت‌شناسی[3] کمتر از ۳۰ درصد را تراتواسپرمی[4] در مایع انزال شده غیرطبیعی است و می‌تواند باعث ناباروری فرد شود. Severe Oligozoospermia نمونه‌هایی هستند که در آن‌ها، تعداد اسپرم در هر میلی‌لیتر مایع انزالی کم‌تر از ۵ میلیون باشد (۱۸). اسپرم به‌دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع فراوان در سطح غشای پلاسمایی و همچنین به‌دلیل کمبود آنزیم‌های محافظتی در سیتوپلاسم در برابر استرس‌های اکسیداتیو بسیار آسیب‌پذیر است. منشأ تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) در مایع منی ابتدا خود اسپرماتوزوآ و سپس لوکوسیت‌های چندهسته‌ای است (۷). بدن در مقابل استرس اکسیداتیو بی‌دفاع نیست، آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST) به‌عنوان مهم‌ترین سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شناخته شده که قادر است بر علیه استرس اکسیداتیو موجب کاهش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژنی به مواد متابولیکی با فعالیت کم‌تر، شده (۵) و آسیب‌های DNA ناشی از لیپید پراکسیداز، تولیدات داخلی را به راحتی برطرف نماید(۱۰). بنابراین، هر نوع تغییر در ژن‌های کدکننده آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز که منجر به کاهش یا فقدان فعالیت آنزیم شود، می‌تواند برای بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو ناباروری حائز اهمیت باشد. هر گونه افزایش در سطح ملکول های موسوم به گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) می‌تواند به‌عنوان عاملی مهم در ناباروری مردان تلقی شوند(۲۳)، چرا که این گونه‌ها قادرند از طریق استرس اکسیداتیو و آسیب به رشته DNA و شکستن آن، اسپرم‌ها را متأثر نموده و موجبات این ناباروری یا حداقل کم باروری را فراهم آورند. گلوتاتیون اس ترانسفراز به خانواده بزرگ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی فاز II تعلق دارند که در دتوکسیفیکاسیون انواعی از مواد فیزیولوژیکی درون سلولی شرکت می‌کنند(۱۱). دانش امروزه GSTها را در ۸ گروه طبقه بندی می‌کند که شامل: آلفا، مو، کاپا، اُمگا، پی، سیگما، تتا و زتا می‌باشند که اساس این تفاوت در توالی آمینواسیدی آن‌ها می‌باشد، این ۸ گروه به ترتیب توسط ژن‌های GSTA، GSTM، GSTK، GSTO، GSTP، GSTS،GSTT و GSTZ کدگذاری می‌شوند(۲۲). علاوه بر این هر گروه خود نیز دارای چندین ژن و ایزوآنزیم نیز می‌باشد(۹). آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز یک ترنسپورتر (انتقال دهنده) زیستی بوده که در اتصال و پیوستگی انواعی از ترکیبات اندوژن و اگزوژن ازجمله توکسین‌ها (سموم) یا کارسینوژن‌ها (سرطان زا) که متابولیسم آن‌ها با کاهش گلوتاتیون همراه است، ایفای نقش می‌کند(۸-۲۵). هرگونه کاهش در GST ناشی از واکنش مواد الکتروفیلیک، می‌تواند با اثر برروی میکروملکول‌های سلولی همچون اسیدهای نوکلئیک، لیپد و پروتئین‌ها، روند اسپرماتوژنزیس و فعالیت اسپرماتوزوآیی را تحت تأثیر خود قرار دهند (۲۷). در انسان ژن GSTM1 به‌صورت یک خوشه ژنی متشکل از ژن‌های GSTM1-GSTM5 روی کروموزوم ۱p۱۳×۳ قرار گرفته است و دارای انواعی از عملکردهای معمول و مهم می‌باشد، افرادی با هموزیگوت حذف جایگاه این ژن فاقد فعالیت آنزیمی سیتوزولی GST-μ می‌باشند(۱۵). گزارشات زیادی دال بر ارتباط این نوع هموزیگوت با افزایش خطر ناباروری در مردان ارائه شده است(۲۲). در یک تحقیق chen، ارتباط پلی‌مورفیسم ژن GSTM1 با ناباروری در مردان واریکوسل را بررسی کرد و نشان داد حذف این ژن در بیماران واریکوسل باعث تخریب عملکرد اسپرم شده و این در نتیجه کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مایع منی در این بیماران به دلیل ژنوتیپ نول GSTM1 می‌باشد(۳)، همچنین Aydemir در مطالعه‌ای نشان داد که ژنوتیپ حذفی GSTM1، باعث افزایش آسیب‌های اکسیداتیو در مایع منی واسپرم مردان، با ناباروری ناشناخته می‌باشد(۱). پلی‌مورفیسم GSTM1 در این بیماران ممکن است به‌عنوان یک منبع مهم، اسپرماتوزوآ را برای دریافت آسیب‌های اکسیداتیو، مستعد نموده و قطعه قطعه شدن DNA اسپرم را به دنبال داشته باشد(۱۹). از طرف دیگر گروه تِتا آنزیم GST انسانی (GSTT) از دو زیر واحد، GSTT1 و GSTT2 تشکیل شده است که هر دو آن‌ها بر روی کروموزوم ۱۱ ۲۲q واقع شده‌اند(۲۶). پلی‌مورفیسم در جایگاه ژنی GSTT1 ناشی از حذف ژنی نیز می‌تواند در افرادی با ژنوتیپ تهی، فقدان مجازی فعالیت آنزیم را در پی داشته باشد(۱۶). مطالعات گذشته به وجود، ارتباط احتمالی میان ژنوتیپ تهی GSTT1 با مستعد شدن فرد برای بیماری‌هایی همچون سرطان، دیابت و نارسایی‌های قلبی عروقی اشاره دارند، ولی به ارتباط احتمالی این نوع ژنوتیپ با ناباروری در مردان توجهات کم‌تری شده است(۲۷). Wu مطالعه‌ای بر روی مردان شمال غربی چین انجام داد، نتایج نشان داد که گاهاً ژنوتیپ تهی GSTT1 زمینه را برای داشتن نارسایی‌های همچون آزوسپرمی و اولیگواسپرمی ناشناخته، مهیا می‌سازد (۲۷). همچنین در مطالعه دیگری که بر روی مردان نابارور چینی دارای واریکوسل انجام شد، نشان داد که آسیب‌های اکسیداتیو می‌تواند دلیل ناباروری در بیماران واریکوسلی باشد و ژنوتیپ نول GSTT1 خطر آسیب‌های اکسیداتیو را در بیماران دارای واریکوسل تا حدی افزایش می‌دهد(۲۸). به هر حال بررسی‌های گسترده محققین حاکی از آن هستند که میان این نوع ژنوتیپ (ژنوتیپ تهی) در ژن‌های GSTM1 و GSTT1 با ناباروری ناشناخته در مردان ارتباط و هماهنگی وجود دارد(۲۴). با

[1] Oligozoospermia
[2] Asthenozoospermia
[3] Morphology
[4] Teratozoospermia

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

این حال برای اثبات این مهم و کمک به حفظ باروری در این افراد، تحقیقات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد، این ضرورت ما را بر آن داشت تا با ارائه مطالعه حاضر، بر روی آنالیز و بررسی این مهم متمرکز شویم.

مواد و روش کار

این مطاله موردی- شاهد روی نمونه خون محیطی ۵۱ بیمار مبتلا به الیگواسپرمی شدید با میانگین سنی ۲۰- ۳۵ سال مراجعه کننده به بیمارستان فاطمیه همدان و کلینیک شفق پارس بروجرد و ۵۲ مرد سالم دارای حداقل یک فرزند با میانگین سنی ۲۰-۳۷ انجام گرفت. بررسی مردان نابارور دارای الیگواسپرمی شدید شامل بررسی سابقه بیمار، سابقه خانوادگی، آنالیز مایع منی و تست‌های آزمایشگاهی شامل مشخصات هورمونی بود. الیگو اسپرمی شدید به‌صورت غلظت کم‌تر از ۵×۱۰^{۶} اسپرم در یک میلی‌لیتر مایع منی تعریف می‌شود. عوامل مختلفی از قبیل سن، گروه خونی و شغل از پرونده بیماران استخراج شده و سپس هر دو گروه شاهد و مورد ازنظر پلی‌مورفیسم در ژن‌های GSTT1 و GSTM1 مورد بررسی قرار گرفتند.

استخراج DNA ژنومی: از تمام افراد مورد مطالعه پنج میلی‌لیتر خون محیطی دریافت شد و نمونه‌های خون به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA منتقل شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰-c نگهداری شدند. از تمام نمونه‌های خون استخراج DNA به روش salting out از گلبول‌های سفید انجام گرفت. بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده به روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام گرفت.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (multiplex PCR): برای تشخیص حذف هموزیگوت در ژن‌های GSTT1 و GSTM1 با استفاده از روش multiplex PCR، سه جفت پرایمر، (یک جفت پرایمر GSTT1، یک جفت پرایمر GSTM1 و یک جفت پرایمر B-Globin (به‌عنوان کنترل داخلی) مورد استفاده قرار گرفت. توالی سه جفت پرایمر (GSTT1، GSTM1، B-globin) مورد استفاده در این مطالعه به ترتیب به شرح زیر می‌باشد که هر جفت از این پرایمرها به‌ترتیب قطعات ۴۸۰، ۲۱۵، ۲۶۸ جفت بازی را تکثیر می‌دهند.

GSTT1:

F: 5′-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3′

R: 5′-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3′

GSTM1:

F: 5′-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3′

R: 5′-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3′

B-Globin:

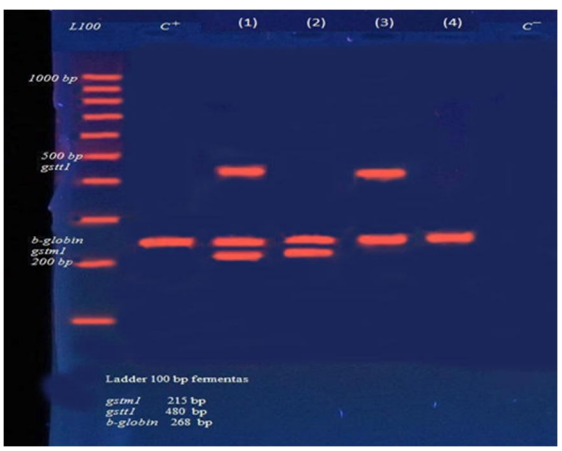
F: 5′- CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC -3′

R: 5′- GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC -3′

واکنش PCR جهت تکثیر DNA برای ۳۵ چرخه در دستگاه ترموسایکلر اجرا شد و در پی آن الکتروفورز ژل آگارز محصولات PCR روی ژل آگارز انجام گرفت. مقایسه فراوانی ژنوتیپ نول و مثبت GSTT1 و GSTM1 بین دو گروه بیمار و شاهد از طریق آزمون‌های t و آزمون دقیق فیشر، chi-square و آزمون مربع کای انجام گرفت.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر ۵۱ بیمار الیگواسپرمی شدید با میانگین سنی ۲۰-۳۵ و ۵۲ مرد سالم با میانگین سنی ۲۰-۳۷ مورد مطالعه قرار گرفتند. از تمام بیماران و گروه شاهد رضایتنامه کتبی گرفته شد. قطعات DNA حاصل از تکثیر ژن GSTT1 و GSTM1 به ترتیب دارای طول ۴۸۰ و ۲۱۵ جفت باز طول می‌باشند و قطعات DNA حاصل از تکثیر ژن B-globin ۲۶۸ جفت باز طول دارد. نمونه‌های منفی فقدان هر کدام از ژن‌های GSTT1 و GSTM1 به‌طور جداگانه و یا با هم در حضور ژن B-Globin بیانگر ژنوتیپ نول برای هر کدام است. در نمونه‌های مثبت وجود هر کدام از ژن‌ها به‌طور جداگانه و یا با هم در حضور ژن B-Globin بیانگر ژنوتیپ وحشی است. در تصویر شماره ۱، L نشانگر Ladder یا سایز مارکر، ستون یک کنترل مثبت و ستون آخر کنترل منفی می‌باشد (شکل ۱).



شکل (۱): محصولات Multiplex PCR ژن‌های GSTT1, GSTM1, B-globin

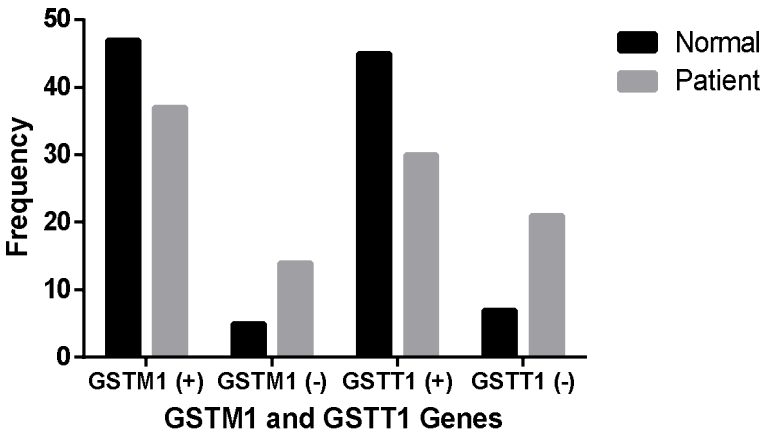
میزان حذف ژن GSTM1 و GSTT1 در گروه بیمار (الیگو اسپرمی شدید) و گروه شاهد (سالم) متفاوت بود، که این تفاوت

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

براساس آزمون مربع کای، برای ژن GSTM1 در سطح ($P<0.05$) و برای ژن GSTT1 در سطح ($P<0.01$) معنی‌دار شد. میزان حذف برای ژن GSTM1 در دو گروه بیمار و سالم به ترتیب، ۲۷/۴۵ و ۹/۶۲ درصد بود. در حالی که حذف برای ژن GSTT1 در دو گروه بیمار و سالم به ترتیب، ۴۱/۱۸ و ۱۳/۴۶ درصد به‌دست آمد. که این مقادیر در جدول شماره یک نشان داده شده است.

جدول (۱): درصد میزان حضور و عدم حضور ژن‌های GSTT1 و GSTM1 در دو گروه شاهد و بیمار

ژن	ژنوتیپ	تعداد مورد (درصد)	تعداد شاهد (درصد)	P-value
GSTM1	حذف (null)	۱۴ (٪۲۷/۴۵)	۵ (٪۹/۶۲)	۰/۰۲
	حضور (presence)	۳۷ (٪۷۲/۵۵)	۴۷ (٪۹۰/۳۸)	
GSTT1	حذف (null)	۲۱ (٪۴۱/۱۸)	۷ (٪۱۳/۴۶)	۰/۰۰۲
	حضور (presence)	۳۰ (٪۵۸/۸۲)	۴۵ (٪۸۶/۵۴)	
GSTM1 و GSTT1	حذف هر دو ژن	۵ (٪۹/۸۰)	۰ (٪۰)	
	حذف یکی از ژن‌ها	۲۵ (٪۴۹/۰۲)	۱۲ (٪۲۳/۰۸)	۰/۰۰۰۴
	حضور هر دو ژن	۲۱ (٪۴۱/۱۸)	۴۰ (٪۷۶/۹۲)	



نمودار (۱): میزان حضور و عدم حضور ژن‌های GSTT1 و GSTM1 در دو گروه کنترل و بیمار

طبق آزمون دقیق فیشر قدرت ارتباط بین ژن‌های GSTT1 و GSTM1 و بیماری الیگواسپرمی به دو صورت بررسی شد (Relative Risk، Odds ratio)، و نتایج نشان می‌دهد ریسک ابتلا به این بیماری با حذف ژن M1، 95%و با ژن 99% T1 می‌باشد. آزمون دقیق فیشر برای هر دو ژن انجام گردید که با P-Value کم‌تر از ۰/۰۵ و ۰/۰۱ به ترتیب برای ژن‌های GSTM1 و GSTT1 که از ارتباط معنی‌دار بین حذف یا وجود ژن با الیگو اسپرمی حکایت دارد. بدین معنی که حذف این دو ژن به ویژه ژن GSTT1 در بیماران به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد سالم می‌باشد.

آزمون ارتباط بین ژن‌ها و ریسک الیگو اسپرمی (Relative Risk) نیز انجام گردید. که این میزان برابر ژن‌های GSTM1 و GSTT1 به ترتیب ۲/۱ و ۲/۴ به‌دست آمد. برآورد آزمون نسبت شانس (Odds Ratio) نیز برای هر دو ژن انجام شد که این میزان نیز برابر ژن‌های GSTM1 و GSTT1 به ترتیب ۳/۵ و ۴/۵ محاسبه شد. این مقادیر نیز گویای ارتباط معنی‌دار حضور ژن‌ها با الیگو اسپرمی دارد. این امر بدین معنی است که عدم وجود این ژن‌ها ریسکی برای الیگو اسپرمی محسوب می‌شود. (جدول شماره ۲)

جدول (۲): ارتباط بین ترکیب ژنوتیپ‌های GSTM1 و GSTT1 و ریسک ابتلاء به الیگو اسپرمی شدید

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

M1 & T1 Combined	Control	Cases (Oligozoo Spermia)	OR(95%CI)
Both present	۴۰	۲۱	1(reference)
Either one null	۱۲	۲۵	3/968 (1/666 to 9/451)

آزمون t برای هر دو ژن به‌طور جداگانه انجام گردید با این آزمون نیز اختلاف معنی‌دار بین گروه بیمار و سالم مشاهده شد. به‌طوریکه این اختلاف برای ژن GSTM1 در سطح $P<0.05$ و برای ژن GSTT1 در سطح $P<0.01$ معنی‌دار گردید. فراوانی حضور و حذف این دو ژن در جمعیت‌های مورد مطالعه از افراد بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری داشت. وجود هر کدام از این ژن‌ها به‌طور جداگانه، احتمال وقوع الیگواسپرمی را به‌طور معنی‌داری کم می‌کند. وجود هر دو ژن به‌طور هم‌زمان نیز احتمال وقوع الیگو اسپرمی را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. لذا می‌توان گفت ارتباط معنی‌داری بین حذف این دو ژن و وقوع الیگو اسپرمی وجود دارد. البته این امر نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

ازآنجاکه در بسیاری از موارد تعیین علت و درمان ناباروری می‌تواند موجب تداوم یک زندگی مشترک و آرامش روحی خانواده‌ها گردد، بررسی علل ناباروری می‌تواند سبب برنامه ریزی کلان در موارد قابل درمان گردد. ژن‌های متفاوت بسیاری که در سلول‌های زاینده، سلول‌های سوماتیکی در بیضه به ویژه سلول‌های سرتولی (لایدیگ) اپیدیدیم‌ها و برش‌های دیگر دستگاه تناسلی بیان می‌شود برای رشد کامل عملکرد اسپرم حیاتی هستند، به‌عبارت دیگر، تخریب بسیاری از مسیرها و شبکه‌های سلولی متفاوت ممکن است منجر به ناباروری مردان گردد (۱۲). مطالعات وجود آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز فعال را در سطح اسپرم نشان داده است (۶). ژن‌های GST سیتوزولی انسانی قادرند پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی از خود نشان دهندکه این امر ظرفیت دفاعی آنزیم را بر ضد استرس اکسیداتیو متأثر نموده و موجبات پیشرفت بعضی از نارسایی‌ها را فراهم آورده که از این بین می‌توان به افزایش خطر ناباروری در مردان اشاره نمود (۲۰). در مطالعه حاضر، فراوانی ژنوتیپ حذفی در ژن‌های GSTT1 و GSTM1 در گروه مردان الیگواسپرمی شدید به ترتیب ۴۱/۱۸ درصد و ۲۷/۴۵ درصد و در گروه شاهد به ترتیب ۱۳/۴۶ درصد و ۹/۶۲ درصد بود. این اختلاف فراوانی ژنوتیپ حذفی GSTT1 و GSTM1 بین دو گروه معنادار می‌باشد. مطالعات قبلی روی ناباروری مردان و پلی‌مورفیسم‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز نتایج متفاوتی را داشته است. بیشتر این مطالعات روی پلی‌مورفیسم در ژن GSTM1 بوده، زیرا ویژگی اتصالی GSTM1 به استروئیدهای جنسی شامل استرادیول و تستوسترون آن را پروتئین ضروری در مسیر اسپرماتوژنز ساخته است همچنین فعالیت آنزیمی و آنتی اکسیدانی بالای این ژن باعث شده که بیشتر مورد توجه قرار گیرد. همانطور که در مطالعه chen نشان داده شد، ژنوتیپ حذفی GSTM1 با کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مایع منی همراه است. در مطالعه Wu و همکاران که روی ۶۹۳۴ بیمار انجام گرفت، نشان داده شد، میان پلی‌مورفیسم‌های تهی GSTM1 و GSTT1 و افزایش خطر ناباروری در مردان ارتباط وجود دارد (۲۹). Naveen در آزمایشات خود نشان داد، که اسپرم افراد واریکوسلی با ژنوتیپ نول برای GSTM1 نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو آسیب‌پذیرتر هستند (۴). تفاوت در بعضی نتایج ممکن است به‌دلیل تفاوت در شرایط و نژاد افراد مورد مطالعه و نیز تأثیر عوامل دیگر بر پلی‌مورفیسم این خانواده ژنی باشد.

می‌توان این گونه نتیجه گرفت که فقدان این ژن‌ها به میزان قابل توجهی با کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون اس ترانسفراز همراه بوده است. در این شرایط بدن در برابر استرس، رادیکال‌های آزاد و اکسیدان‌ها از دفاع کم‌تری برخوردار می‌باشد و در نتیجه این شرایط می‌تواند باعث الیگواسپرمی شود. این کاهش تعداد اسپرم می‌تواند ناشی از آسیب به DNA اسپرم به دلیل عدم تعادل آنتی‌اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد و اکسیدان‌ها باشد و یا به دلیل القا آسیب و ایجاد اختلال در یکی از مسیرها و مراحل اسپرماتوژنز باشد. و در نهایت می‌توان گفت ارتباط معنی‌داری بین حذف این دو ژن و وقوع الیگو اسپرمی وجود دارد البته این امر نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از کلیه بیماران و خانواده‌های آن‌ها که در این مطالعه شرکت نمودند صمیمانه تشکر می‌نماییم. از مدیریت کلینیک شفق پارس بروجرد جناب آقای دکتر ملک جمشید بیرانوند و همچنین از ریاست و پرسنل بخش نازایی بیمارستان فاطمیه همدان مخصوصاً خانم دکتر یاونگی متخصص زنان و فوق تخصص نازایی که در این راه ما را یاری دادند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

1. Aydemir B, Onaran I, Kiziler AR, Alici B, Akyolcu MC. Increased oxidative damage of sperm and seminal plasma in men with idiopathic infertility is higher in patients with glutathione Stransferase Mu-1 null genotype. Asian J Androl 2007; 9: 108-15.
2. Boivin J, Bunting L, Collins J A, Nygren K.G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. J Hum Reprod 2007; 22(6): 1506-12.
3. Chen SS, Chang LS, Chen HW, Wie YH. Polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and male infertility in Taiwanese patients with varicocele. Hum Reprod 2002; 17: 718-25.
4. Chen SS, Chang LS, Wei YH. Oxidative damage to proteins and decrease of antioxidant capacity in patients with varicocele. Free Radic Biol Med 2001; 30(1): 1328-34.
5. Dusinská M, Ficek A, Horská A, Raslová K, Petrovská H, Vallová B, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms influence the level of oxidative DNA damage and antioxidant protection in humans. J Mutat Res 2001; 1-482(1-2): 47-55.
6. Gopalakrishnan B, Aravinda S, Pawshe CH, Totey SM, Nagpal S, Salunke DM, et al. Studies on glutathione S-transferases important for sperm function: evidence of catalytic activity-independent functions. Biochem J 1998; 329: 231-41.
7. Hammadeh ME, Radwan M, Al-Hasani S, Micu R, Rosenbaum P, Lorenz M, et al. Comparison of reactive oxygen species concentration in seminal plasma and semen parameters in partners of pregnant and non-pregnant patients after IVF/ICSI. Reprod Biomed Online 2006;13(5):696–706.
8. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005;45:51–88.
9. Hayes JD, Strange RC. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. J Pharmacol 2000; 61(3): 154-66.
10. Hurst R, Bao Y, Jemth P, Mannervik B, Williamson G. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activity of human glutathione transferases. Biochem J 1998;332 (Pt 1):97–100.
11. Ketterer B. A bird's eye view of the glutathione transferase field. J Chem Biol Interact 2001; 138(1): 27-42.
12. Liska F. Selected genetic aspects of male infertility- what animal models tell as. Bio (Praha) 2003;49: 129-41.
13. O'Flynn O'Brien K L, Varghese AC, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: a review. J Fertil Steril 2010; 93(1):1-12.
14. Pasqualotto F, Pasqualotto EB, Sobreiro BP, Hallak J, Medeiros F, Lucon AM. Clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation in a university hospital. J Urol Int 2006;76(2): 122-5.
15. Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, Berger R, Hart I, Vannais D, et al. Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. Am J Hum Gene 1993; 53: 220-33.
16. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. J Biochem 1994; 15-300 (1): 271-6.
17. Poongothai J, Gopenath TS, Manonayski S. Genetics of Human male infertility. Singapore Med J 2009; 50(4), 336-46.
18. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB Mahmoud AMA, WHO. WHO manual for the standardized investigation, diagnosis and management of the

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

infertile male. Cambridge: Cambridge University Press; 2000.P. 33.

19. Rubes J, Selevan SG, Sram RJ, Evenson DP, Perreault SD. GSTM1 genotype influences the susceptibility of men to sperm DNA damage associated with exposure to air pollution. J Mutat Res 2007; 625(1-2): 20-8.
20. Ryberg D, Skaug V, Hewer A, Phillips DH, Harries LW, Wolf CR, et al. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. J Carcinogenesis 1997; 18(7): 1285-9.
21. Safarinejad MR. Infertility among couples in a population-based study in Iran: prevalence and associated risk factors. Int J Androl 2008; 31(3):303-14.
22. Safarinejad MR, Dadkhah F, Ali Asgari M, Hosseini SY, Kolahi AA, Iran-Pour E. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and male factor infertility risk: a pooled analysis of studies. J Urol 2012; 9(3): 541-8.
23. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. J Androl 2002; 23(6): 737-52.
24. Song X, Zhao Y, Cai Q, Zhang Y, Niu Y. Association of the Glutathione S-transferases M1 and T1 polymorphism with male infertility: a meta-analysis. J Assist Reprod Genet 2013; 30(1): 131-41.
25. Strange RC, Jones PW, Fryer AA. Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology. J Toxicol Lett 2000;112(113): 357-63.
26. Tan KL, Webb GC, Baker RT, Board PG. Molecular cloning of a cDNA and chromosomal localization of a human theta-class glutathione S-transferase gene (GSTT2) to chromosome 22. J Genomics 1995; 25(2): 381-7.
27. Wu QF, Xing JP, Tang KF, Xue W, Liu M, Sun JH, et al. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase T1 gene and susceptibility to idiopathic azoospermia or oligospermia in northwestern China. J Asian Androl 2008; 10(2): 266-70.
28. Wu Q, Xing J, Xue W, Sun J, Wang X, Jin X. Influence of polymorphism of glutathione -S-transferase T1 on Chinese Patients With Varicocele. Fertil Steril 2009; 91(3): 960-62.
29. Wu W, Lu J, Tang Q, Zhang S, Yuan B, Li J, et al. GSTM1 and GSTT1 null polymorphisms and male infertility risk: an updated meta-analysis encompassing 6934 subjects. Sci Rep 2013;3:2258.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Original Article

ASSOCIATION OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE M1 AND T1 POLYMORPHISMS WITH SEVERE OLIGOZOOSPERMIA

Elahe Fatahi[1], Kyumars Safinejad[2], Mohammadreza Mehrabi[3]*

Received: 23 Sep, 2015; Accepted: 24 Nov, 2015

Abstract

Background &Aims: Male factors account for 20%-50% of cases of infertility and male infertility due to severe oligozoospermia and azoospermia has been associated with a number of genetic risk factors. Severe oligozoospermia was defined as a concentration of less than 5×106 sperm/ml. The aim of this study was to examine whether an association exists between glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 genes polymorphism and severe oligozoospermia.

Material &Methods: This case-control study was conducted on 103 subjects, including 51 infertile men with severe oligozoospermia and 52 fertile men serving as controls. Blood samples were collected from patients and healthy individuals and used for isolation of genomic deoxyribonucleic acid (DNA). The polymorphisms were analyzed using multiplex-polymerase chain reaction (multiplex-PCR) technique. The data were analyzed using Chi-square, Fisher exact test, and independent t-test. ($P < 0.05$)

***Result*:** The frequency of GSTT1 and GSTM1 null genotypes were observed to be higher in infertile men with severe oligozoospermia (GSTT1=41.18% and GSTM1=27.45%) in comparison with the fertile men (GSTT1=13.46% and GSTM1=9.62%).

***Conclusion*:** These differences were statistically significant. The results of this study suggest a possible positive effect of GSTT1 and GSTM1 null genotypes on the spermatogenesis process of the testis.

***Keywords*:** Glutathions transferase, GSTT1, GSTM1, Severe oligospermia

Address: Department of Biology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran
Tel: +98 91215107312
Email: q_safinejad@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016: 26(10): 851 ISSN: 1027-3727

[1] *M. Sc., Department of Biology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran*
[2] *Assistant Professor, Department of Biology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]