بررسی جهش‌های ژن آنزیم فسفولیپید هیدروپراکسید گلوتاتیون پراکسیداز (PHGPX) در مردان نابارور ایرانی

نیکنام لک پور (M.Sc.)[1]، محمد حسین مدرسی (M.D., Ph.D.)[2]، هادی خرازی (Ph.D.)[1]، محمدمهدی آخوندی (Ph.D.)[3]، اسد ویسی رایگانی (Ph.D.)[1]، جمیله قاسمی (B.Sc.)[4]، مهشید حجت (M.Sc.)[4]، محمدرضا صادقی (Ph.D.)[4]

۱ـ گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲ـ مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی زیستی، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

۳ـ مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

٤ـ مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: وجود لکوسیتها و اسپرم‌های معیوب و یا مرده در مایع منی انسان به عنوان منبعی برای تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه آسیب به اسپرم‌های سالم می‌باشند. برای خنثی کردن این ترکیبات، مکانیسم‌های دفاعیِ آنزیمی و غیرآنزیمی در اسپرم و مایع منی وجود دارد. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نوع IV (GPX-4 یا PHGPX) به عنوان سلنوپروتئین اصلی اسپرم یکی از این مکانیسم‌های آنزیمی است و دارای نقش‌های متعددی در روند اسپرماتوژنز می‌باشد. از جمله این نقشها می‌توان به تشکیل کپسول میتوکندریایی، سمیت‌زدایی هیدروپراکسیدها و متراکم کردن کروماتین اسپرم اشاره کرد. در صورت کاهش فعالیت یا مقدار این آنزیم ممکن است اختلالاتی در روند اسپرماتوژنز و عملکرد اسپرم ایجاد شود. با توجه به اینکه نقص در بیان ژن GPX-4 یا وجود جهشها در این ژن ممکن است سبب کاهش فعالیت یا مقدار PHGPX شود، هدف این مطالعه شناسایی تعدادی از جهش‌های مهم در این ژن بوسیله روش PCR-RFLP در مردان نابارور ایرانی می‌باشد.

روش بررسی: مطالعه روی ۱۲۸ مرد مراجعه‌کننده به مرکز تخصصی درمان ناباروری ابن‌سینا شامل ۷٤ مرد نابارور دارای اسپرموگرام غیرطبیعی، ۱۸ مرد نورمواسپرم و ۳٦ کنترل بارور انجام شد. میانگین± انحراف معیار پارامترهای اسپرمی این افراد محاسبه شد. DNA ژنومی از گلبول‌های سفید نمونه خون به روش Salting out استخراج گردید. سپس دو زوج پرایمر برای دو قطعه از ژن GPX-4 در اگزون‌های 1A و 4 حاوی نوکلئوتیدهای (C→T) 6+، (G→A)17+ و (G→A) 1725+ طراحی و با استفاده از آنزیم‌های PShAI، MWOI و SatI با روش PCR–RFLP ارزیابی شد.

نتایج: اثر آنزیم MWOI بر روی قطعه 237bp حاصل از PCR در ژن سالم تولید دو قطعه با اندازه‌های 151bp و 86bp می‌نماید؛ در صورتیکه اثر همین آنزیم در جهش (C→T) 6+ قادر به بریدن قطعه ژن نبوده و قطعه 237bp بدون تغییر باقی می‌ماند. اثر آنزیم PShA1 بر روی قطعه 237bp حاصل از PCR در ژن سالم تولید دو قطعه با اندازه‌های 161bp و 76bp می‌نماید؛ در صورتیکه اثر همین آنزیم در جهش (G→A)17+ قادر به بریدن قطعه ژن نبوده و قطعه 237bp بدون تغییر باقی می‌ماند و نهایتاً اثر آنزیم SatI بر قطعه 148bp حاصل از PCR در ژن سالم تولید دو قطعه با اندازه‌های 108bp و 40bp می‌نماید در صورتی که همین آنزیم در جهش (G→A) 1725+ قادر به بریدن قطعه 148bp نبوده و این قطعه نیز بدون تغییر می‌ماند. بررسی هضم آنزیمی قطعات 237bp و 148bp در مردان تمامی گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که هیچ یک از سه جهش مورد بررسی در ژن GPX-4 در آنها وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این تحقیق مشخص شد که ممکن است شیوع این جهشها درمردان نابارور ایرانی پایین بوده و با اتیولوژی اختلال در پارامترهای اسپرمی این افراد ارتباطی نداشته باشد. با این وجود برای تعیین دقیق شیوع این جهشها و جهش‌های دیگر این ژن در مردان نابارور ایرانی بررسی تعداد بیشتری از مردان نابارور و تعیین توالی ژن این آنزیم در آنها پیشنهاد می‌شود.

کلید واژگان: آنزیم فسفولیپید هیدروپراکسید گلوتاتیون پراکسیداز، اسپرم، گونه‌های فعال اکسیژن، جهش، ناباروری مردان، سلنو پروتئین.

مسئول مکاتبه: دکتر محمدرضا صادقی، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی ـ ابن‌سینا، تهران، ایران.

پست الکترونیک: Sadeghi@avesina.ac.ir

Downloaded from http://www.jri.ir