

بررسی میزان تاثیر غلظت سلیونیوم پلاسمای سمینال بر پارامترهای اسپرم انسان

مریم عیدی^۱، امید پویان^۲، اکرم عیدی^۳، رضا فضائی^۴، محسن دادگر^۴،پونه شاه‌محمدی^۵، حجت اله سعیدی^۶، مسیح بهار^۷^۱ دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین^۲ استادیار، گروه اورولوژی، بخش IVF بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران^۳ دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران^۴ استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب^۵ کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران^۶ استادیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی تهران^۷ کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: سلیونیوم برای رشد و نمو طبیعی بیضه‌ها و اسپرماتوژنز مورد نیاز است. در مطالعه تجربی حاضر، ارتباط بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال که نشان‌دهنده غلظت سلیونیوم است و پارامترهای اسپرم در ۲۰۰ مرد مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: آزمایشات آنالیز منی روی نمونه‌های منی افراد مراجعه کننده به کلینیک باروری امید انجام گرفت. این افراد بر اساس نتایج آزمایشات آنالیز منی (سیال شدن، pH، حجم، تراکم اسپرم، درصد تحرک اسپرم، درصد اسپرم‌های زنده، درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم) به پنج گروه نرمواسپرمی، اولیگوزواسپرمی، آستنوزواسپرمی، آزواسپرمی و افرادی که دارای بیماری واریکوسل بودند تقسیم شدند. فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال توسط کیت Randox ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال در نمونه‌های افراد مبتلا به واریکوسل، آزواسپرمی، اولیگوزواسپرمی، آستنوزواسپرمی در مقایسه با افراد نرمواسپرمی بطور معنی‌داری کمتر بود. ارتباط منفی و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز و غلظت فروکتوز پلاسمای سمینال، تعداد گلبولهای سفید پلاسمای سمینال، درصد کمبودهای دم اسپرم، درصد اسپرم‌های دم کوتاه و درصد اسپرم‌های دم پیچیده وجود داشت. همچنین، ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرم‌های زنده، تراکم اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های متحرک، درصد اسپرم‌های با تحرک سریع، درصد اسپرم‌های با تحرک آهسته، درصد اسپرم‌های با حرکت چرخشی، درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی وجود داشت.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر دلالت بر آن دارد که اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال که نشان‌دهنده غلظت سلیونیوم است، می‌تواند مارکر مناسبی برای بررسی عامل ناباروری مردان و تعیین کیفیت مناسب منی در مردان باشد.

واژگان کلیدی: سلیونیوم، آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز، پارامترهای اسپرم، ناباروری مردان

مقدمه

سلیونیوم ماده غذایی کمیاب و ضروری برای انسان‌ها و حیوانات است. در میان اندام‌های تولیدمثلی، بیضه دارای بالاترین

غلظت سلیونیوم است که مقدار آن حتی از کبد نیز بیشتر است. غلظت سلیونیوم نشان‌دهنده نقش محافظتی این عنصر کمیاب و آنزیم‌های مرتبط با آن در طی اسپرماتوژنز است. غلظت سلیونیوم در بیضه رت توسط مکانیسم هوموستاتیک تنظیم می‌شود که مقدم بر ظرفیت سلیونیوم در گندهای نر از سایر بافتهاست (۱). نیازهای بیضه‌ای به سلیونیوم در زمان بلوغ هم-زمان با اسپرماتوژنز افزایش می‌یابد. کاهش غلظت سلیونیوم

آدرس نویسنده مسئول: ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، دانشکده علوم، دکتر مریم عیدی

(email: eidi@iauvaramin.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۳/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۴/۴

آنالیز منی شامل سیال شدن، pH، حجم، تراکم اسپرم، تحرک اسپرم، درصد زنده بودن اسپرم، درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم، به پنج گروه نرمواسپرمیک، اولیگوزواسپرمیک، آستنوزواسپرمیک، آزواسپرمی، تراتوزواسپرمیک و افرادی که دارای بیماری واریکوسل بودند، تقسیم شدند.

در پژوهش حاضر، متغیر مستقل فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز و متغیر وابسته کیفیت هر یک از پارامترهای منی شامل حجم نمونه، pH، ویسکوزیته، درصد تجمع یا توده شدن اسپرم‌ها، تراکم اسپرماتوزوئیدها، درصد اسپرم‌های متحرک، درصد اسپرم‌های زنده و درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی می‌باشند.

جهت جداسازی پلاسمای سمینال از بخش حاوی اسپرم، ابتدا نمونه‌ها ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده، محلول رویی جدا شده و مجدداً با دور ۱۰۰۰۰ بمدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. محلول بالایی موجود در میکروتیوب‌ها جدا شده و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز که نشان‌دهنده غلظت سلیونیوم پلاسمای سمینال است در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز موجود در پلاسمای سمینال از روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت Randox (Germany) استفاده شد.

از ضریب همبستگی پیرسون برای تعیین ارتباط بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و هر یک از پارامترهای منی استفاده شد. $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال در نمونه‌های افراد مبتلا به واریکوسل ($P < 0.01$)، آزواسپرمی ($P < 0.01$)، اولیگوزواسپرمی ($P < 0.01$)، تراتوزواسپرمی ($P < 0.01$) و آستنوزواسپرمی ($P < 0.05$) در مقایسه با افراد نرمواسپرمی بطور معنی‌داری کمتر بود (نمودار ۱).

ارتباط منفی و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز و غلظت فروکتوز پلاسمای سمینال ($r = -0.26$)، $P < 0.01$ و تعداد گلبول‌های سفید پلاسمای سمینال ($r = -0.15$)، $P < 0.01$ در کل نمونه‌ها وجود داشت. بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرم‌های زنده نیز ارتباط مثبت و معنی‌داری ($r = -0.63$)، $P < 0.01$ در کل نمونه‌ها مشاهده شد (نمودار ۲).

احتمالاً اسپرماتوزوآ را نسبت به رادیکال‌های آزاد اکسیژن آسیب‌پذیرتر می‌سازد. سرعت میتوز و مراحل مختلف میوز در توبول منی‌ساز، سلولهای زاینده را در معرض اثر آسیبی موضعی رادیکالهای آزاد قرار می‌دهد. سلیونیوم یک آنتی‌اکسیدان قوی است که جزء ضروری آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) می‌باشد (۲). این آنزیم تجزیه پراکسیدهای لیپید و هیدروژن پراکسید را کاتالیز می‌کند. عمل بیولوژیکی سلیونیوم در پستانداران از طریق ترکیبات فعال زیستی شامل آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز و سایر سلنوپروتئینهای سرم و بافت بیان می‌شود (۳).

کمبود سلیونیوم با مشکلات تولیدمثلی در رت، موش، جوجه، خوکچه، گوسفند و گوساله مرتبط است (۴). تحقیقات نشان داده‌اند که مکمل سلیونیوم موجب بهبود عملکرد تولیدمثلی گوسفند و موش می‌شود (۵،۶). سلیونیوم برای رشد و نمو طبیعی بیضه و اسپرماتوزن در رت (۷)، موش و خوکچه (۴) ضروری است.

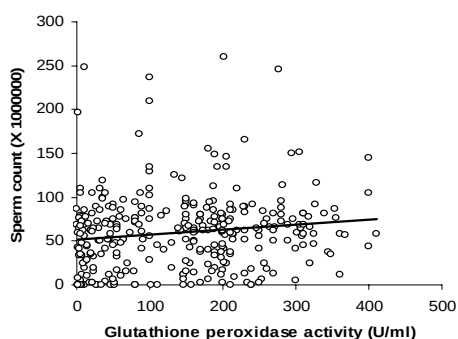
از آنجائی که غلظت سلیونیوم پلاسمای سمینال فاکتور مهمی در اسپرماتوزن است، در پژوهش حاضر ارتباط بین فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز که نشان‌دهنده غلظت سلیونیوم پلاسمای سمینال است و کیفیت پارامترهای اسپرم انسان بررسی شد.

مواد و روشها

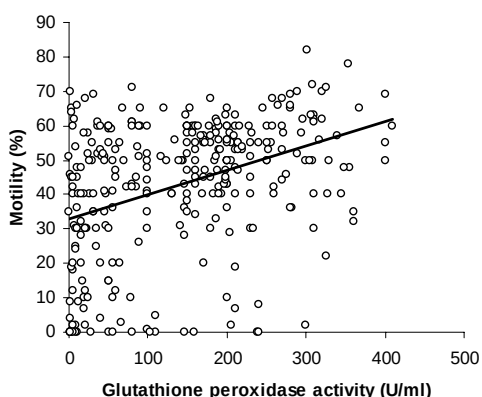
بطور تصادفی ۲۰۰ مرد مراجعه کننده به کلینیک باروری امید با میانگین سنی 31.2 ± 5.3 سال مورد بررسی قرار گرفتند. این افراد پس از ۲ سال ازدواج و آمیزش بدون جلوگیری، دارای فرزند نشده بودند. از تمامی افراد، قبل از انجام مطالعه رضایت آگاهانه گرفته شد.

از آنجائی که مدت زمان پرهیز از آمیزش اثر قابل‌توجهی در حجم مایع منی و غلظت اسپرم داشته، بنابراین دوره پرهیز جنسی قبل از نمونه‌گیری مایع منی ۷۲-۴۷ ساعت در نظر گرفته شد. نمونه در ظروف پلاستیکی دهانه‌گشاد که توسط آزمایشگاه در اختیار بیمار گذاشته شد، جمع‌آوری شد. پس از جمع‌آوری، نمونه‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا از نظر وجود کواگولوم یا لخته مورد بررسی قرار گیرند. اکثر نمونه‌ها حدود ۱۵ الی ۳۰ دقیقه زمان لازم دارند تا کاملاً به حالت مایع (Liquefaction) درآیند. سیال شدن کامل نمونه معمولاً ۳۰ الی ۶۰ دقیقه بعد از انزال رخ می‌دهد.

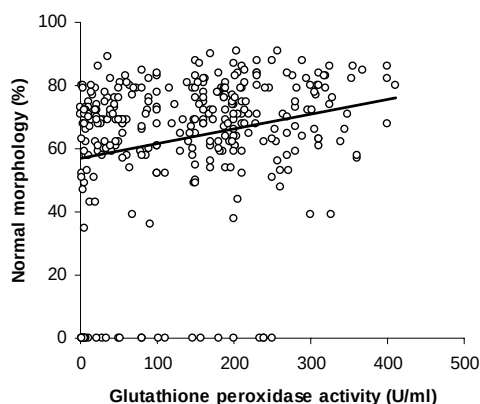
آنالیز منی بر اساس استانداردهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) روی نمونه‌های منی انجام شد. نمونه‌ها بر طبق نتایج



نمودار ۳- ارتباط خطی بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و تراکم اسپرمها در کل نمونه‌ها.

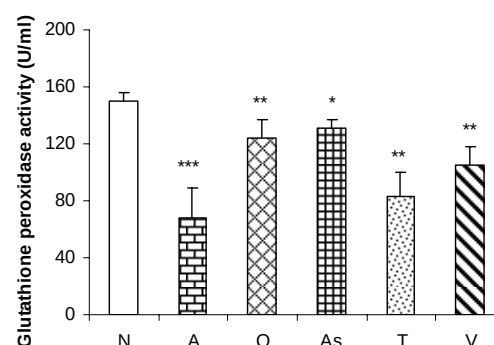


نمودار ۴- ارتباط خطی بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرمهای متحرک در کل نمونه‌ها.

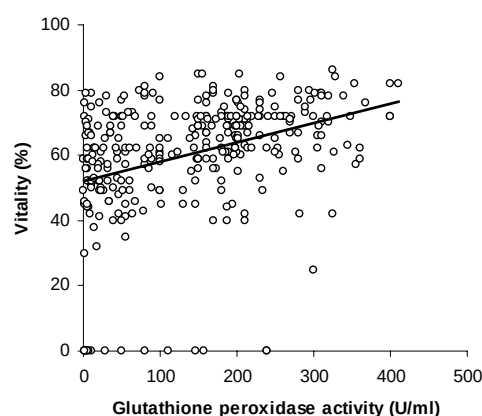


نمودار ۵- ارتباط خطی بین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرمهای با مورفولوژی طبیعی در کل نمونه‌ها

هم‌چنین ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و تراکم اسپرمها ($r = -0.30$, $P < 0.001$) در کل نمونه‌ها وجود داشت (نمودار ۳). ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرمهای متحرک ($r = -0.77$, $P < 0.001$) در کل نمونه‌ها نیز وجود داشت (نمودار ۴). بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرمهای با مورفولوژی طبیعی نیز ارتباط مثبت و معنی‌داری ($r = -0.47$, $P < 0.001$) در کل نمونه‌ها مشاهده شد (نمودار ۵).



نمودار ۱- مقایسه فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال بین افراد نرمواسپرمیک (N)، آزواسپرمیک (A)، اولیگوزواسپرمیک (O)، آستنوزواسپرمیک (As)، تراتوزواسپرمیک (T) و واریکوسل (V). ($P < 0.05$), ($P < 0.01$), ($P < 0.001$) از گروه نرمواسپرمیک را نشان می‌دهد).



نمودار ۲- ارتباط خطی بین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرمهای زنده در کل نمونه‌ها.

بحث

بیضه‌ها دارای دو جزء عملکردی مهم هستند: سلولهای بینابینی و لوله‌های منی‌ساز. لوله‌های منی‌ساز از طریق فرآیندی بنام اسپرماتوزوئز، اسپرماتوزوآ را تولید می‌کنند. در دهه گذشته، توجه قابل ملاحظه‌ای روی نقش قوی استرس القاء شده توسط فاکتورهای محیطی و اثر آنها بر ظرفیت تولیدمثلی مردان شده است. دلایل مختلفی بعنوان عامل ناباروری مردان شناسایی شده (۸،۹) و پیشرفت‌های اخیر در فهم باروری مردان دلالت بر استرس اکسیداتیو بعنوان عامل مهم در ناباروری دارند (۱۰). گونه‌های اکسیژن فعال تقریباً به همهٔ ماکرومولکول‌های سلول از جمله اسیدهای چرب اشباع شده متصل به غشاء آسیب می‌زنند و از این رو اعمال سلولی را تخریب می‌نمایند (۱۱). اسپرماتوزوآی انسان بویژه نسبت به آسیب پراکسیداتیو حساس است، چون دارای غلظت بسیار بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع بوده (۱۲) و ظرفیتی برای ترمیم غشاء بروز ندهاده و دارای قدرت موثری برای تولید گونه‌های اکسیژن فعال هستند که بطور عمده آنیون سوپراکسید و هیدروژن پراکسید می‌باشند (۱۳).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی احتمالاً آسیب سلولی گسترده‌ای را ایجاد می‌کنند، مگر آنکه توسط عوامل محافظتی مشخصی مانند آنزیم‌های GSH-Px مورد آزمایش قرار گیرند. GSH-Px بیضه‌ای به مقدار زیادی در سلول‌های زاینده یافت می‌شوند (۱۴). در سال‌های اخیر نشان داده شده که کمبود سلینیوم بیان GSH-Px سلولی وابسته به سلینیوم را دچار تنظیم کاهشی نموده (۱۵) و از این رو بر فعالیت GSH-Px اثر می‌گذارد. بنابراین، کاهش سطوح GSH-Px در شرایط کمبود سلینیوم، سلولهای زاینده را در معرض استرس اکسیداتیو قرار می‌دهد.

مطالعات نشان داده‌اند که افزایش فعالیت GSH-Px سلول‌های اسپرماتوژنیک بعد از در معرض H_2O_2 قرار گرفتن، پیشنهاد می‌کند که GSH بخشی از یک پاسخ سازشی سلول‌های اسپرماتوژنیک به استرس است (۱۶).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال در نمونه‌های افراد مبتلا به واریکوسل، آرواسپرمی، اولیگواسپرمی و آستنوزواسپرمی در مقایسه با افراد نرمواسپرمی بطور معنی‌داری کمتر است. همانند مطالعه ما، Krsnjavi و همکاران در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که غلظت سلینیوم سرم در مردان دچار اولیگواسپرمی و آرواسپرمی در مقایسه با افراد شاهد پایین‌تر می‌باشد (۱۷).

این مطالعه نشان داد که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و تراکم اسپرم‌ها در کل نمونه‌ها وجود دارد که با مشابه یافته‌های مطالعه Oldereid و همکاران در سال ۱۹۹۸ است. آنها دریافتند که غلظت سلینیوم پلاسمای سمینال بطور مثبتی با تراکم اسپرماتوزوآ در مردان نروژی نابارور ارتباط دارد (۱۸).

در این مطالعه، ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرم‌های متحرک وجود داشت. در مطالعاتی که Scott و همکارانش انجام دادند، تغذیه مردان کم بارور با ۱۰۰ میکروگرم سلینیوم در روز برای سه ماه بطور مؤثری تحرک اسپرم‌ها را افزایش می‌داد. ۱۱ درصد مردانی که مکمل فعال را دریافت می‌کردند، حداقل صاحب یک فرزند شدند. اگرچه تیمار ۲ برابر این مقدار سلینیوم به مردان لهستانی کم بارور در یک دوره زمانی مشابه اثر مفیدی را روی تحرک اسپرم‌ها ایجاد نکرد (۱۹).

یافته‌های ما نشان داد که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز پلاسمای سمینال و درصد اسپرم‌های زنده و نیز درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی در کل نمونه‌ها وجود دارد.

در این پژوهش، ارتباط منفی و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز و غلظت فروکتوز پلاسمای سمینال در کل نمونه‌ها وجود داشت. از آنجائی که غلظت فروکتوز پلاسمای سمینال با کاهش متابولیسم اسپرم‌ها، کاهش درصد اسپرم‌های متحرک یا زنده و یا افزایش درصد مورفولوژی غیرطبیعی افزایش می‌یابد، می‌تواند ارتباط منفی بین غلظت فروکتوز و فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز را توضیح دهد.

نتایج نشان دادند که ارتباط منفی و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون پراکسیداز و تعداد گلبولهای سفید پلاسمای سمینال در کل نمونه‌ها وجود دارد. حیواناتی که با رژیم غذایی فاقد سلینیوم تغذیه شده بودند، دارای ساختارهای غیرطبیعی در قطعه میانی اسپرم بودند که با تحرک کم اسپرم‌ها و تمایل آنها برای شکسته شدن دم مرتبط بود و شانس باروری را کاهش می‌داد. توضیحی در مورد این یافته توسط Ursini و همکارانش انجام شد. آنها دریافتند که شکلی از گلوکاتاتیون پراکسید (GPx4) برای محافظت سلول‌های اسپرم در حال نمو بر علیه آسیب اکسیداتیو وجود دارد که پلی‌مرازهایی در اسپرماتوزوئید بالغ به داخل پروتئین ساختمانی در کپسول میتوکندریایی قطعه میانی است. GPx4 در حدود ۵۰ درصد از ماده کپسولی اسپرم را شامل می‌شود. این پلی‌مریزاسیون

سلنیوم به طرق مختلف می‌تواند در عملکرد اسپرماتوژنز موثر باشد و کمبود آن یکی از فاکتورهای موثر در ایجاد ناباروری یا کم‌باروری مردان است. بنابراین، این عنصر می‌تواند تاثیر به‌سزایی در درمان این دسته از ناباروری‌ها داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از کارکنان محترم کلینیک باروری امید، سرکار خانم ابراهیمی کارشناس محترم بخش آندرولوزی آزمایشگاه بهار و کارکنان محترم آزمایشگاه شیمی تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب که در انجام پژوهش حاضر نهایت همکاری را مبذول داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

احتمالاً برای کامل‌شدن ساختمان موردنیاز برای ثبات و تحرک اسپرم ضروری می‌باشد (۲۰).

سلنیوم رژیم غذایی بطور مستقیم بر تحرک اسپرم اثر می‌گذارد. رت‌های با کمبود شدید سلنیوم دارای غلظت تستوسترون پائینی هستند (۲۱). تغییر غلظت سلنیوم پلاسمای سمینال دلالت بر آن دارد که سلنیوم موجود در این غدد با سلنیوم موجود در رژیم غذایی تغییر می‌کند. بنابراین، می‌توان انتظار داشت که افراد با مصرف سلنیوم موجود در رژیم غذایی می‌توانند کمبود سلنیوم را جبران نمایند. از آنجائی که رابطه مستقیمی بین غلظت سلنیوم و فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز وجود دارد (۱۵)، با مصرف سلنیوم موجود در غذا فعالیت این آنزیم نیز افزایش می‌یابد. می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که کمبودهای تغذیه‌ای نیز بایستی در درمان مردان نابارور مورد توجه بیشتری قرار گیرند.

REFERENCES

- Behne D, Hofer T, Von Berswordt Wallrabe R, Elger W. Selenium in the testis of the rat: studies on its regulation and its importance for the organism. *J Nutr* 1982;102:1682-1687.
- Shamberger RJ. Biological interactions of selenium with other substances. In: Frieden E (editor). *Biochemistry of selenium*. New York: Plenum Press; 1983: 125-66.
- Hill KE, Xia Y, Akesson B, Boeglin MF, Burk RF. Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium deficient and selenium supplemented Chinese subjects. *J Nutr* 1996;126:138-45.
- Combs GF Jr, Combs SB. *The role of selenium in nutrition*. San Diego: Academic Press; 1986.
- Tang CC, Chen HN, Rui HF. The effects of selenium on gestation, fertility, and offspring in mice. *Biol Trace Elem Res* 1991;30:227-31.
- Van Ryssen JBJ, Bradfield GD, Van Malsen S, De Villers JF. Response to selenium supplementation of sheep grazing cultivated pastures in the natal midlands. *J S Afr Vet Assoc* 1992;63:148-55.
- Behne D, Weiler H, Kyriakopoulos A. Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. *J Reprod Fertil* 1996;106:291-97.
- Carbone DJ, Shah A, Thomas AJ, Agarwal A. Partial obstruction not antisperm antibodies, causing infertility after vasovasostomy. *J Urol* 1998;159:827-830.
- Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Varicocele is associated and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *J Urol* 1999;161:1831-34.
- Aitken RJ, Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and Y chromosome. *Reproduction* 2001;122:497-506.
- Lenzi A, Gandini L, Picardo M, Tramer F, Sandri G, Panfili E. Lipoperoxidation damage of spermatozoa polyunsaturated fatty acids (PUFA): scavenger mechanisms and possible scavenger therapies. *Front Biosci* 2000;5:1-15.
- Jones R, Mann T, Sherins R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermatidial properties of fatty acids peroxides and protective action of seminal plasma. *Fertil Steril* 1979;31:531-37.
- Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1987;81:459-69.
- Zini A, Schlegel PN. Identification and characterization of antioxidant enzyme mRNA in the rat epididymis. *Int J Androl* 1997;20:86-91.
- Muller AS, Pallauf J. Down regulation of GPx1 mRNA and the loss of GPx1 activity causes cellular damage in the liver of selenium deficient rabbits. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2002;86:273-87.

16. Rao AVSK, Shaha C. Role of glutathione-S-transferase in oxidative stress induced male germ cell apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2000;29:1015-27.
17. Krsnjavi H, Grgurevie BA, Beker D, Romic Z, Krsnjavi A. Selenium and fertility in men. *Trace Elem Med* 1992;9:107-108.
18. Oldereid NB, Thomassen Y, Purvis K. Selenium in human male reproductive organs. *Hum Reprod* 1998;13:2172-76.
19. Iwanier K, Zachara B. Selenium supplementation enhances the element concentration in blood and seminal fluid but does not change the spermatozoal quality characteristics in subfertile men. *J Androl* 1995;16: 441-47.
20. Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J, et al. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 1999;258:1393-96.
21. Kaur R, Parshad VR. Effects of dietary selenium on differentiation, morphology and functions of spermatozoa of the house rat. *Rattus rattus L. Mutation Res* 1994;309:29-35.