Review Article

Importance of 1-carbon cycle antioxidant function in male fertility: A review article

Ghajari E[1,2], Kiani Sh[1], Naderi N[1], Tavalaee M[1*], Meshkibaf MH[2], Nasr-Esfahani MH[1]

1- Department of Animal Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, I.R. Iran.
2- Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, I.R. Iran.

Received: 2022/09/24 | Accepted: 2022/12/19

Abstract:

Background: Spermatogenesis is a process that leads to the production and differentiation of sperm. During this process, various molecular and metabolic pathways are involved. "1-carbon cycle" is known as one of the most important metabolic cycles, which includes two cycles of folate and methionine and the transsulfuration pathway. This cycle has essential and vital roles in DNA and RNA methylation, DNA condensation and maturation, and maintaining the antioxidant balance in sperm. In this review, the importance of the 1-carbon cycle in the process of spermatogenesis has been considered.
Materials and Methods: Using the keywords of the study, related studies were reviewed from PubMed, Google Scholar and Science Direct databases between 1993 and 2021 in English, and the information of 69 selected articles was extracted.
Result: Disturbance in the 1-carbon cycle metabolism, such as the transsulfuration pathway, the re-methylation process, folate or cobalamin deficiency, and the presence of single nucleotide polymorphism of the MTHFR gene variant C677T, can affect DNA and RNA methylation and sperm DNA integrity. An increase in homocysteine concentration, especially in individuals with folate deficiency, is associated with an increase in oxidative stress and a decrease in antioxidants in the cell, which can affect sperm function and fertility.
Conclusion: Strengthening the 1-carbon cycle with folate and other micronutrients may lead to the improvement of sperm parameters and fertility potential by activating the enzymes involved in the transsulfuration pathway and reducing homocysteine concentration.

Keywords: Male fertility, 1-carbon cycle, Glutathione, Transsulfuration pathway, Sperm

***Corresponding Author**
Email: Tavalaee.royan@gmail.com
Tel: 0098 912 610 7064
Fax: 0098 319 501 5687

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, January, 2023; Vol. 27, No 6, Pages 739-749

Please cite this article as: Ghajari E, Kiani Sh, Naderi N, Tavalaee M, Meshkibaf MH, Nasr-Esfahani MH. Importance of 1-carbon cycle antioxidant function in male fertility: A review article. ***Feyz*** 2023; 27(6): 739-49.

نقش چرخه ۱- کربن در فرآیند اسپرماتوژنز و باروری: مقاله مروری

الهام قجری[۱،۲]، شقایق کیانی[۳]، نوشین نادری[۴]، مرضیه تولائی[۵*]، محمّدحسن مشکی‌باف[۶]، محمّدحسین نصر اصفهانی[۷]

خلاصه:

سابقه و هدف: اسپرماتوژنز فرآیندی است که به تولید و تمایز اسپرم منجر می‌شود. در طی این فرآیند، مسیرهای مولکولی و متابولیسم‌های مختلفی درگیر هستند. «چرخه ۱- کربن» به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چرخه‌های متابولیکی که شامل دو چرخه فولات و متیونین و مسیر ترانس‌سولفوراسیون می‌باشد، شناخته شده است. این چرخه در متیلاسیون DNA و RNA، تراکم و بلوغ DNA و حفظ تعادل آنتی‌اکسیدانی در اسپرم نقش‌های ضروری و حیاتی دارد. در این مطالعه مروری، به اهمیت چرخه ۱- کربن در فرآیند اسپرماتوژنز پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: با استفاده از چندین واژگان کلیدی، مطالعات مربوط از پایگاه‌های PubMed و Scholar Google و Science Direct بین سال‌های ۱۹۹۳ تا ۲۰۲۱ به زبان انگلیسی بررسی شدند که اطلاعات ۶۹ مقاله منتخب، استخراج گردید.

نتایج: اختلال در متابولیسم چرخه ۱- کربن مانند مسیر ترانس‌سولفوراسیون، روند متیلاسیون مجدد، کمبود فولات یا کوبالامین و وجود پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی ژن MTHFR واریانت C677T، می‌تواند بر متیلاسیون DNA و RNA و سلامت DNA اسپرم تأثیرگذار باشد. افزایش غلظت هموسیستئین به‌ویژه در افراد با کمبود فولات، با افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول همراه است که می‌تواند بر عملکرد و توانایی باروری اسپرم مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری: ممکن است تقویت چرخه ۱- کربن با فولات و دیگر ریزمغذی‌ها بتواند با فعال‌کردن آنزیم‌های دخیل در مسیر ترانس‌سولفوراسیون و کاهش غلظت هموسیستئین، به بهبود پارامترهای اسپرمی و پتانسیل باروری منجر شود.

واژگان کلیدی: باروری مردان، چرخه ۱- کربن، گلوتاتیون، مسیر ترانس سولفوراسیون، اسپرم

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۴۰۱، صفحات ۷۴۹-۷۳۹

مقدمه

چرخه متابولیکی ۱- کربن یکی از چرخه‌های متابولیسمی مهمّ درون سلول است. این چرخه همانند کارخانه‌ای است که واحدهای ۱- کربن را برای فرآیندهای مهمّ سلولی مثل ساخت نوکلئوتیدها، پلی‌آمین‌ها، اسیدهای آمینه، فسفولیپیدها و متیلاسیون Deoxyribonucleic acid (DNA)، Ribonucleic acid (RNA) و هیستون‌ها فراهم می‌کند. از آن‌جایی که فرآیندهایی مانند رشد و تمایز بافتی نیازمند ساخت نوکلئوتیدها و اسیدهای آمینه می‌باشند، فعالیت صحیح چرخه ۱- کربن بسیار ضروری است و به‌عنوان یک پل ارتباطی بین محیط زندگی افراد و تنظیمات اپی‌ژنتیکی نسل بعد عمل می‌کند. این چرخه، از دو، چرخه اصلی متیونین و فولات و همچنین از مسیر ترانس‌سولفوراسیون تشکیل شده است. این چرخه‌ها و مسیرها ارتباط بالایی دارند، به‌طوری‌که اختلال در یک بخش می‌تواند در قسمت‌های دیگر چرخه نیز اثرگذار باشد. از اجزای اصلی این چرخه می‌توان به فولات، متیونین، سیستئین و هموسیستئین اشاره کرد [۱]. بدن قادر به ساختن فولات نیست و باید آن را ازطریق رژیم غذایی تأمین کند [۲]؛ اسیدفولیک فرم ساخته‌شده فولات است که ازطریق غذا وارد بدن می‌شود. از آن‌جایی که اسیدفولیک فرم بیولوژیکی فعالی ندارد، درنتیجه آنزیم دی‌هیدروفولات‌ردوکتاز ابتدا اسیدفولیک را به دی‌هیدروفولات و سپس به تتراهیدروفولات تبدیل می‌کند [۳]. در ادامه تتراهیدروفولات وارد چرخه می‌گردد و با دریافت یک گروه متیل به ۵ و ۱۰ متیلن‌تتراهیدروفولات تبدیل می‌شود. این گروه متیل در نتیجه‌ی تبدیل اسیدآمینه سرین به

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری جانوری، اصفهان، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری جانوری، اصفهان، ایران

۴. دکترا، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری جانوری، اصفهان، ایران

۵. دانشیار، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری جانوری، اصفهان، ایران

۶. استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، شیراز، ایران

۷. استاد، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری جانوری، اصفهان، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

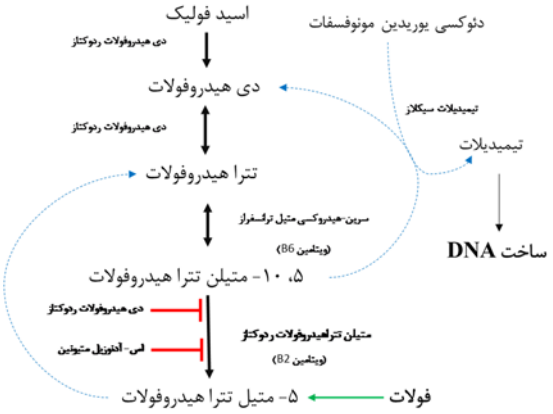
اصفهان، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری جانوری

تلفن: ۰۳۱ ۹۵۰۱۵۶۸۲ **دورنویس:** ۰۳۱ ۹۵۰۱۵۶۸۷

پست الکترونیک: Tavalaee.royan@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۱/۹/۲۸

گلایسین، توسط آنزیم سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز تأمین می‌شود [۴]. این ترکیب می‌تواند توسط یک آنزیم کلیدی وابسته به ویتامین B2 به نام ۵ و ۱۰- متیلن‌تتراهیدروفولات‌ردوکتاز به ۵-متیل‌تتراهیدروفولات که رایج‌ترین فرم فولات در بدن است، تبدیل شود (شکل شماره ۱) [۵]. ۵-متیلن‌تتراهیدروفولات توسط آنزیم متیونین‌سنتتاز گروه متیل، خود را به هموسیستئین در چرخه متیونین منتقل می‌کند و به تتراهیدروفولات تبدیل می‌گردد. برای انجام این واکنش، ویتامین B12 ضروری می‌باشد. در نتیجه‌ی این انتقال، هموسیستئین به متیونین تبدیل می‌شود [۶].



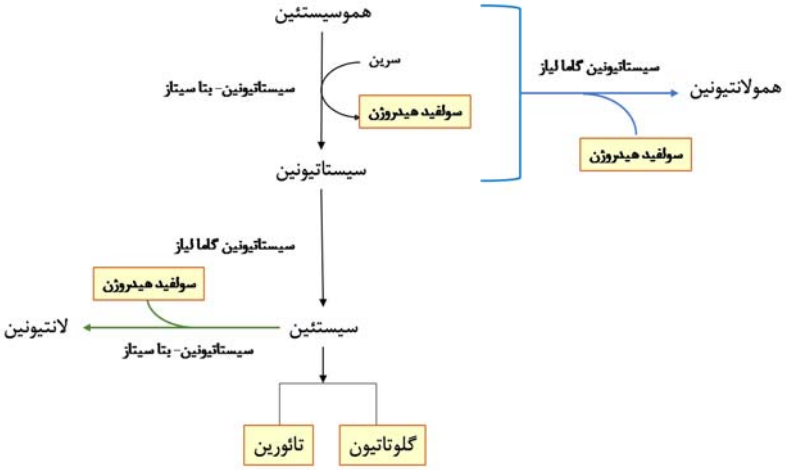
شکل شماره ۱- چرخه متابولیکی اسیدفولیک

اسیدفولیک توسط دی‌هیدروفولات‌ردوکتاز ابتدا به دی‌هیدروفولات و سپس به تتراهیدروفولات و در ادامه تتراهیدروفولات به ۵، ۱۰-متیلن‌تتراهیدروفولات تبدیل می‌شود که سوبسترایی برای متیلن‌تتراهیدروفولات‌ردوکتاز است. نتیجه‌ی واکنش، تولید ۵-متیل‌تتراهیدروفولات است. خطوط قرمز نشان‌دهنده اثرات مهاری دی‌هیدروفولات‌ردوکتاز و اس-آدنوزیل متیونین بر متیلن‌تتراهیدروفولات‌ردوکتاز می‌باشند. اس-آدنوزیل‌متیونین که یکی از ترکیبات مهم در چرخه متیونین (شکل شماره ۲) می‌باشد، می‌تواند برای متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز به‌عنوان یک مهارکننده عمل کند. در نتیجه‌ی مهار این آنزیم، ۵ و ۱۰- متیلن تتراهیدروفولات وارد مسیر تولید نوکلئوتید تیمین می‌شود. به این‌ترتیب که ۵ و ۱۰- متیلن تتراهیدروفولات گروه متیل خود را توسط آنزیم تیمیدیل‌سنتتاز به دئوکسی یوریدین مونوفسفات منتقل می‌کند و دئوکسی تیمیدین‌مونوفسفات و دی‌هیدروفولات تولید می‌شوند. علاوه‌براین، ۵ و ۱۰- متیلن‌تتراهیدروفولات می‌تواند توسط متیلن‌تتراهیدروفولات‌دهیدروژناز به ۱۰- فرمیل تتراهیدروفولات تبدیل شود. این ترکیب می‌تواند نوکلئوتیدهای پورین و تتراهیدروفولات را تولید کند. بسیاری از تبدیل‌های شیمیایی در متابولیسم فولات نیازمند تنظیم‌کننده‌های ردوکس ازجمله ($NAD^+/NADH$) می‌باشد؛ درنتیجه فعالیت چرخه ۱-کربن با وضعیت ردوکس سلولی نیز تنظیم می‌شود [۷].

شکل شماره ۲- چرخه متابولیکی متیونین

در این چرخه، متیونین برای ساخت اس-آدنوزیل متیونین، اس-آدنوزیل هموسیستئین و هموسیستئین استفاده می‌شود. در چرخه متابولیکی متیونین، فولات و ویتامین B12 برای تبدیل هموسیستئین به متیونین توسط آنزیم متیونین‌سینتاز لازم است. پس از آن‌که اس-آدنوزیل‌متیونین گروه متیل خود را منتقل کرد، به اس-آدنوزیل‌هموسیستئین و سپس به هموسیستئین تبدیل می‌شود. گروه متیل اس-آدنوزیل‌متیونین توسط آنزیم‌های DNA متیل‌ترانسفراز به DNA منتقل می‌شود [۸]. در پستانداران DNA متیل‌ترانسفرازهایی که عمل متیلاسیون DNA را انجام می‌دهند، شامل DNA متیل‌ترانسفراز ۱، DNA متیل‌ترانسفراز ۳-b و DNA متیل‌ترانسفراز a-3 می‌باشند. DNA متیل ترانسفراز-۱، متیلاسیون DNA را طی فرآیند میتوز حفظ می‌کند؛ درحالی‌که دو آنزیم DNA متیل‌ترانسفراز a-3 و DNA متیل ترانسفراز ۳-b طی تشکیل جنین الگوی متیلاسیون DNA را از نو ایجاد می‌کنند [۹]. متیلاسیون DNA در کربن شماره ۵ سیتوزین در مناطق غنی از CPG رخ می‌دهد و موجب می‌شود که این بخش از ژن، از دسترس آنزیم RNA پلیمراز خارج گردد و ژن این ناحیه بیان نشود. ناحیه‌هایی از ژنوم که از مناطق CPG غنی باشند، جزایر CPG نامیده می‌شوند که معمولاً در نواحی نزدیک به پروموتور ژن‌ها قرار دارند. علاوه‌براین، ممکن است در نواحی دیگری به‌جز مناطق CPG متیلاسیون رخ دهد؛ مانند مناطق CPT، CPC و CPA که به این نواحی، مناطق غیر از CPG گفته می‌شود. برخی معتقدند که متیلاسیون در مناطق غیر از CPG، حاصل فعالیت بیش از حدّ آنزیم DNA متیل‌ترانسفراز است؛ اما برخی دیگر اعتقاد دارند که متیلاسیون در این مناطق تصادفی نیست و در تنظیم بیان ژن نقش دارد [۱]. هموسیستئین تولیدشده در چرخه ۱- کربن می‌تواند وارد سه مسیر متفاوت شود که دو مسیر به بازیابی متیونین در چرخه منجر

می‌شود [۸]. علاوه‌براین، هموسیستئین می‌تواند وارد مسیر ترانس‌سولفوراسیون شود (شکل شماره ۳). مسیر ترانس‌سولفوراسیون از این جهت حائز اهمیت است که می‌تواند آنتی‌اکسیدان‌های لازم را برای مقابله با اکسیدان‌ها تولید کند و به خنثی‌شدن استرس اکسیداتیو منجر گردد. آنزیم‌های دخیل در این مسیر سیستاتیونین‌بتاسنتاز، سیستاتیونین‌گامالیاز و ۳- مرکاپتو پیروات سولفورترانسفراز می‌باشند [۱۰]. این آنزیم‌ها در انواع سلول‌ها به میزان متفاوتی بیان می‌شوند. در دستگاه تولیدمثلی، سیستاتیونین‌بتاسنتاز در سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی و اپیدیدیم بیان می‌شود؛ درحالی‌که ۳- مرکاپتو پیروات سولفورترانسفراز و سیستاتیونین‌گامالیاز در سیستم عصبی و مغز بیان بالایی دارند. همچنین این آنزیم‌ها در مکان متفاوتی از سلول فعالیت می‌کنند، به‌این‌ترتیب که سیستاتیونین‌بتاسنتاز و سیستاتیونین‌گامالیاز به پیرودوکسال-۵-فسفات وابسته می‌باشند و در سیتوزول فعال هستند؛ درحالی‌که - مرکاپتو پیروات سولفورترانسفراز به روی وابسته است و در میتوکندری فعالیت دارد [۱۲،۱۱]. آنزیم سیستاتیونین‌بتاسنتاز، کاتالیزگر مرحله‌ای است که سرین و هموسیستئین برای تولید سیستاتیونین ترکیب می‌شوند. این مرحله محدودکننده سرعت مسیر می‌باشد. سپس سیستاتیونین توسط آنزیم سیستاتیونین‌گامالیاز شکسته می‌شود و سیستئین تولید می‌گردد [۱۴،۱۳]. آنزیم سیستاتیونین‌بتاسنتاز در ساختار خود دارای کوفاکتور هم می‌باشد که در هنگام استرس اکسیداتیو اکسید می‌گردد و باعث فعال‌شدن آنزیم سیستاتیونین‌بتاسنتاز می‌شود [۱۵]. علاوه‌براین، سیستاتیونین‌بتاسنتاز به‌طور آلوستریکی توسط اس-آدنوزیل متیونین نیز تنظیم می‌شود. به این‌صورت که افزایش سطح اس-آدنوزیل متیونین به افزایش فعالیت سیستاتیونین‌بتاسنتاز می‌انجامد. بنابراین، مسیر ترانس‌سولفوراسیون می‌تواند در پاسخ به شرایط مختلفی، ازجمله استرس اکسیداتیو تنظیم شود [۱۷،۱۶]. باتوجه به نقش چرخه ۱- کربن در حفظ عملکرد اسپرم و با درنظرگرفتن نتایج مطالعات مختلف، هدف از انجام این مطالعه مروری، بررسی تأثیر متابولسیم ۱- کربن و تقویت آن به‌ویژه مسیر ترانس‌سولفوراسیون بر اسپرماتوژنز، حفظ عملکرد مطلوب اسپرم و توانایی باروری آن می‌باشد.



شکل شماره ۳- مسیر ترانس سولفوراسیون

این مسیر، بخشی از چرخه ۱- کربن است که طی آن سیستئین از هموسیستئین تشکیل می‌شود. در این مسیر متابولیکی، آنزیم سیستاتیونین بتا سینتاز، ترکیب سرین و هموسیستئین را به سیستاتیونین تبدیل می‌کند. سپس سیستاتیونین تحت‌تأثیر سیستاتیونین‌گامالیاز قرار می‌گیرد و اسیدآمینه سیستئین را تولید می‌کند که پیش‌ساز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چون گلوتاتیون و تائورین می‌باشد. یکی دیگر از محصولات مسیر ترانس‌سولفوراسیون گاز سولفید هیدروژن است.

مواد و روش‌ها

برای این مطالعه مروری، مطالعات مربوط به نقش چرخه ۱- کربن در اسپرماتوژنز و باروری مردان از پایگاه‌های PubMed، Scholar Google و Science Direct بین سال‌های ۱۹۹۳ تا ۲۰۲۱ براساس کلیدواژه‌های باروری مردان، چرخه ۱- کربن، گلوتاتیون، مسیر ترانس سولفوراسیون و اسپرم به زبان انگلیسی بررسی شدند که شامل ۴،۴۵۰ مطالعه بود و در مجموع، اطلاعات از ۶۹ مقاله استخراج گردید.

نتایج

در این مطالعه، از مجموع ۶۹ منبع استفاده‌شده، در ۹ مقاله به نقش اپی‌ژنتیک و ارتباط آن با چرخه ۱- کربن، ۸ مقاله به آنزیم MTHFR و متابولیت‌هایش و نقش آن بر سلامت و ناباروری، ۳ مقاله به تفسیر چرخه ۱- کربن و نقش آن در ناباروری، ۳ مقاله به تأثیر مکمل‌ها بر چرخه ۱- کربن، ۵ مقاله به نقش آنزیم‌های CBS و CSE، ۱۲ مقاله به تأثیر مکمل‌ها بر سلامت و کیفیت اسپرم، ۸ مقاله به نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ROS، ۱۵ مقاله به تأثیر H2S بر ارگان‌های مختلف و ناباروی، ۴ مقاله به اثر استرس اکسیداتیو و ۲ مقاله به اثر التهاب پرداخته شده بود.

اهمیت چرخه ۱- کربن در اسپرماتوژنز طبیعی

اسپرماتوژنز فرآیند پیچیده‌ای است که توسط ژن‌های متعددی، ازجمله ژن‌های دخیل در چرخه ۱- کربن تنظیم می‌شود. ارتباط بین متیلاسیون DNA و اسپرماتوژنز با ارزیابی وضعیت متیلاسیون ژن‌های ایمپرینت در DNA اسپرم طی مراحل مختلف اسپرماتوژنز نشان داده شده است [۱۸]. فولات همراه با هموسیستئین و متیونین در فرآیند طبیعی بلوغ و بسته‌بندی کروماتین اسپرم و دفاع در برابر گونه فعال اکسیژن نقش دارند. منبع اصلی تولید گونه فعال اکسیژن در مایع منی، اسپرم‌های نابالغ و لوکوسیت‌ها می‌باشند [۱۹]. اسپرم‌های نابالغ به‌دلیل دارابودن سیتوپلاسم اضافه در قسمت میانی تاژک و وجود آنزیم گلوکز- ۶- فسفات دهیدروژناز در سیتوپلاسم خود، با تحریک آنزیم NADH اکسیدوردوکتاز به تولید گونه فعال اکسیژن منجر می‌شوند [۲۱،۲۰]. همچنین نشت الکترون از زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری به تولید گونه فعال اکسیژن منجر می‌شود [۲۲]. در شرایط طبیعی، آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا میزان گونه فعال اکسیژن را در سطح فیزیولوژیک حفظ می‌کنند که این مقدار برای برخی از فعالیت‌های اسپرم ازجمله ظرفیت‌یابی، واکنش آکروزومی و ادغام‌شدن اسپرم و تخمک ضروری می‌باشد. اگر این تعادل بین پراکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها دچار اختلال گردد، باعث افزایش سطح گونه فعال اکسیژن و القای استرس اکسیداتیو می‌شود که اکسیداسیون غشا و آسیب DNA اسپرم و متعاقب آن اختلال در عملکرد اسپرم و کاهش کیفیت مایع منی را به‌دنبال دارد و به این طریق باروری طبیعی اسپرم را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد [۲۳،۱۹]. مقابله با استرس اکسیداتیو در سلول‌های بدن حیاتی است. به همین‌دلیل در سلول‌ها مسیرهایی، مانند مسیر ترانس‌سولفوراسیون برای تولید آنتی‌اکسیدان‌ها وجود دارد تا با اکسیدان‌های تولیدشده مقابله کنند. استرس اکسیداتیو آنزیم محدودکننده سرعت سیستاتیونین‌بتاسنتاز را در مسیر ترانس‌سولفوراسیون تحریک و به‌طور همزمان آنزیم متیونین‌سنتاز را مهار می‌کند. بنابراین، ذخایر هموسیستئین در مسیر ساخت مولکول‌های سیستئین و متعاقب آن ساخت گلوتاتیون قرار می‌گیرند. از این‌رو، مسیر ترانس‌سولفوراسیون می‌تواند به‌عنوان یک منبع جایگزین برای تأمین پتانسیل ردوکس سلول‌های متحمل استرس اکسیداتیو و یا به‌عنوان یک مسیر برای تولید آنتی‌اکسیدان‌ها باشد [۲۴].

گلوتاتیون: یک آنتی‌اکسیدان برجسته

گلوتاتیون یک تری‌پپتید با گروه سولفیدریل فعال است که می‌تواند داکی‌والان‌های احیاکننده را اهدا کند. تولید این تری‌پپتید با ترکیب سیستئین و گلوتامات توسط آنزیم گلوتامات - سیستئین لیگاز آغاز می‌شود. سپس آنزیم گلوتاتیون سنتاز با اضافه‌کردن گلایسین ساخت گلوتاتیون را تکمیل می‌کند [۲۵]. گلوتاتیون به‌عنوان یک کوسوبسترا برای آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به‌منظور حذف پراکسید هیدروژن عمل می‌کند. در این فرآیند دو مولکول گلوتاتیون، ۲ الکترون را برای کاهش هیدروژن پراکسید اهدا می‌کنند و خود به گلوتاتیون اکسیدشده تبدیل می‌شوند. این ترکیب توسط گلوتاتیون ردوکتاز با استفاده از NADPH به‌عنوان دهنده الکترون، مجدداً به گلوتاتیون تبدیل می‌شود [۲۶]. گلوتاتیون یک تیول با توزیع گسترده در سلول‌های بدنی، ازجمله گامت‌ها است. این آنتی‌اکسیدان ضروری در کبد ساخته و به اپیدیدیم منتقل می‌شود [۲۷]؛ کمبود گلوتاتیون می‌تواند باعث ناپایداری در قسمت میانی اسپرم و درنتیجه نقص در تحرک آن شود. علاوه‌براین، سیستم گلوتاتیون می‌تواند یک حفاظت عالی دربرابر پراکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی اسپرماتوزوا ایجاد کند و با زدودن پراکسید هیدروژن مانع از آغاز پراکسیداسیون لیپیدی شود [۲۸].

سولفید هیدروژن و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن

یکی دیگر از محصولات چرخه ۱- کربن که طی مسیر ترانس‌سولفوراسیون تولید می‌شود، سولفید هیدروژن است [۲۹]. سولفید هیدروژن یک گاز بی‌رنگ، قابل انحلال در آب و با بوی تخم‌مرغ گندیده است و دارای نیمه عمر کوتاهی [چند ثانیه تا چند دقیقه) می‌باشد و در سیگنالینگ سلولی نقش دارد [۳۰]. علاوه‌براین سولفید هیدروژن به‌عنوان یک انتقال‌دهنده گازی عمل می‌کند و در القای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدآپوپتوزی نقش دارد [۳۱] و به‌عنوان یک مقابله‌کننده دربرابر عفونت‌های ناشی از ویروس‌های RNAدار شناخته شده است [۳۲]. سولفید هیدروژن می‌تواند نقش مهمّی در سیستم قلبی - عروقی، عصبی و درون‌ریز داشته باشد و در آسیب‌شناسی بسیاری از بیماری‌ها، مانند آلزایمر و سندروم داون نیز نقش دارد [۳۳]. علاوه‌براین، سولفید هیدروژن در تنظیم تولید انرژی در میتوکندری نقش مهمّی دارد [۳۴]. با استفاده از یک سیستم آنزیمی، تولید سولفید هیدروژن در سلول‌های

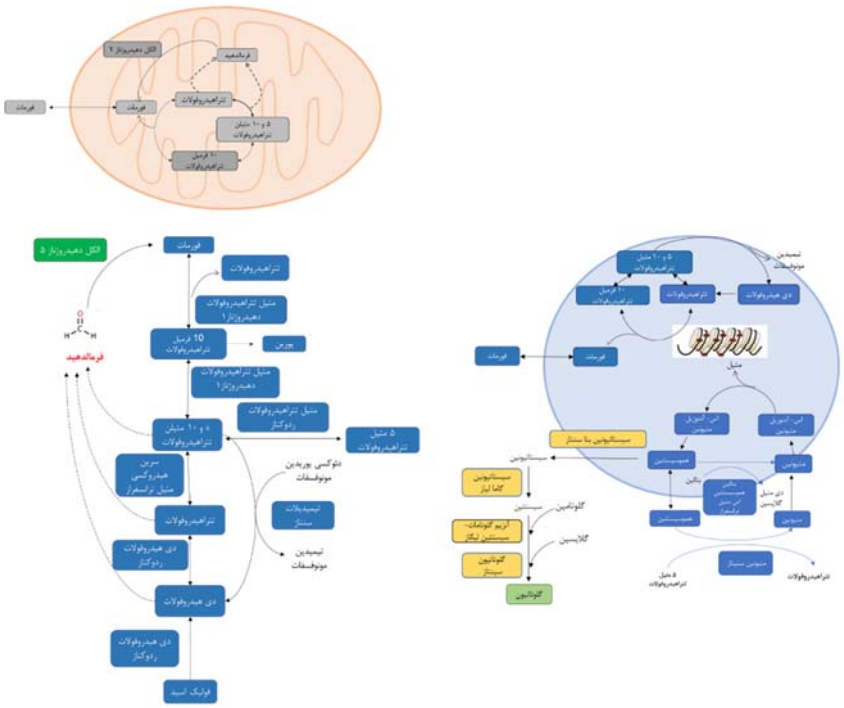
پستانداران به‌طور دقیق تنظیم می‌شود. از این آنزیم‌ها می‌توان به سیستاتیونین‌بتاسنتاز و سیستاتیونین‌گامالیاز وابسته به پیریدوکسال-۵-فسفات که در سیتوزول سلولی قرار دارند و در مسیر ترانسولفوراسیون نقش بازی می‌کنند، اشاره کرد [۳۵]. مطالعات نشان می‌دهد که سولفید هیدروژن، سلول‌ها و بافت‌های مختلف را در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو حفظ می‌کند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سولفید هیدروژن می‌تواند به‌واسطه فاکتور شبه‌هسته‌ای ۲ مشتق از اریتروئید ۲ ازطریق فعال‌سازی رونویسی ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید گلوتاتیون انجام گیرد [۳۸-۳۶]. درمورد بیان و توزیع آنزیم‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن در اسپرم اطلاعات کمی وجود دارد. با این‌حال، طی سال‌های گذشته تمرکز زیادی بر خواص آنتی‌اکسیدانی سولفید هیدروژن به‌عنوان عامل احیاکننده اختصاص داده شده است [۳۹]. بررسی‌های ایمینوهیستوشیمی وجود آنزیم سیستاتیونین‌بتاسنتاز را در سلول‌های لایدیگ، سرتولی و سلول‌های زایای بیضه‌ها نشان می‌دهد، درحالی‌که آنزیم سیستاتیونین‌گامالیاز در سلول‌های سرتولی و سلول‌های زایای تکوین‌یافته نظیر اسپرماتوگونیا یافت می‌شود [۴۰].

سمّیت چرخه ۱- کربن

یکی دیگر از ترکیباتی که طی چرخه ۱- کربن تولید می‌شود، فرمالدهید می‌باشد [۴۱]. غلظت طبیعی فرمالدهید در خون بین ۲۰ تا ۱۰۰ میکرومولار می‌باشد و این نشان می‌دهد که فرمالدهید توسط منابع مختلفی در بدن تولید می‌گردد و افزایش بیش از حدّ فرمالدهید در بدن می‌تواند به آسیب DNA منجر شود [۴۲]. این ترکیب از تجزیه اکسیداتیو گروهی از مشتقات فولات، شامل تتراهیدروفولات، ۵ و ۱۰- متیلن‌تتراهیدروفولات و دی‌هیدروفولات تولید می‌شود [۴۳]. علاوه‌براین، طی تبدیل سرین به گلایسین، فرمالدهید تولید می‌شود و در ترکیب با تتراهیدروفولات به تولید ۵ و ۱۰- متیلن‌تتراهیدروفولات منجر می‌گردد [۴۴]. عوامل مختلفی می‌توانند بر آزادشدن فرمالدهید از مشتقات فولات تأثیر بگذارند؛ به‌عنوان مثال ویتامین C به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند آزادشدن فرمالدهید از تتراهیدروفولات را مهار کند، درحالی‌که هیدروژن پراکسید آزادسازی فرمالدهید را تسریع می‌کند [۴۵]. علاوه‌براین، آزادشدن فرمالدهید از تتراهیدروفولات به دما بستگی دارد. به‌عنوان مثال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سرکوب می‌شود و در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد [۴۶]. فرمالدهید می‌تواند باعث افزایش مورفولوژی غیرطبیعی و کاهش تعداد، تحرک و زنده‌مانی اسپرم و همچنین کاهش سطح تستوسترون گردد و اثرات مخربی بر بافت بیضه داشته باشد و باعث تغییر در ساختار لوله‌های منی‌ساز و تخریب اپیتلیوم زایا شود [۴۷].

نقش مکمل‌ها در فعال‌سازی چرخه ۱- کربن

ویتامین‌ها و ریزمغذی‌ها ترکیبات ضروری برای سلامت بدن هستند که در فرآیندهای مختلف سلول، ازجمله ساخت DNA، ترمیم DNA و بیان ژن‌ها به‌عنوان سوبسترا و کوفاکتور عمل می‌کنند و کمبود این ریزمغذی‌ها ازجمله فولات و ویتامین B12 می‌تواند ازطریق هیپومتیلاسیون DNA و کاهش سنتز DNA در چرخه سلولی اختلال ایجاد کنند [۴۸]. از این‌رو، استفاده از مکمل‌های ویتامینی، مانند اسیدفولیک، ویتامین‌های B6، B12، روی و سیستئین، علاوه‌بر این‌که به عملکرد صحیح متابولیسم چرخه ۱- کربن کمک می‌کنند، بلکه با محافظت در بسته‌بندی کروماتین اثر مثبتی بر یکپارچگی DNA و کاهش آسیب به آن، بلوغ هسته اسپرم، حفظ انسجام غشای اسپرم و مهار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا دارند. روی به‌عنوان یک ریزمغذی، ازطریق تشکیل پیوند غیرکووالانی بین پروتامین و کروماتین باعث حفظ انسجام DNA می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که تجویز خوراکی ترکیبی از عناصر ریزمغذی، شامل ویتامین‌های گروه B، روی و سیستئین به شرکای مرد در زوج‌هایی که از تکنیک‌های کمک‌باروری (ART) استفاده می‌کنند، می‌تواند باعث کاهش آسیب DNA و بهبود بلوغ هسته‌ای اسپرم‌ها شود [۴۹]. علاوه‌براین، مکمل‌های ویتامینی و ریزمغذی‌ها با تحریک تولید آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا مانند گلوتاتیون و هیپوتورین می‌توانند از تجزیه DNA و تراکم هسته‌ای جلوگیری کنند.



شکل شماره ۴- چرخه متابولیسم ۱- کربن را علاوه‌بر سیتوپلاسم سلول می‌توان در هسته و میتوکندری هم مشاهده کرد. اهمیت این چرخه در سلول در تولید نوکلئوتیدها، آنتی‌اکسیدان‌ها و متیلاسیون است. در این مسیر علاوه‌بر تولید متابولیت‌های مهم، ماده‌ای سمّی به نام فرمالدهید هم می‌تواند تشکیل شود. سلول با استفاده از آنزیم الکل دهیدروژناز، فرمالدهید سمّی تولیدشده را به فرمات تبدیل می‌کند و یک ارائه‌دهنده متیل را به چرخه باز می‌گرداند.

بحث

کاهش پیشرونده باروری در مردان در سال‌های گذشته، نیاز به راهکارهایی برای پیشگیری از کاهش کیفیت اسپرم را نشان می‌دهد [۵۰]. چرخه ۱- کربن یک هدف مهم برای حفظ کیفیت اسپرم است، زیرا این چرخه در همراهی با فولات و سایر ویتامین‌ها، نقش مهمّی را در ساخت DNA و ایجاد تغییرات اپی‌ژنتیکی، نظیر متیلاسیون DNA و هیستون، بازی می‌کند. اسپرماتوژنز شامل تغییرات سلولی، ژنتیکی و کروماتینی متفاوتی است که طی تولید اسپرم رخ می‌دهد. فولات و فعالیت طبیعی آنزیم‌های چرخه ۱- کربن برای ساخت نوکلئوتیدها، متیلاسیون، حفظ سلامت ژنوم و محافظت در برابر آسیب DNA مهم است. می‌توان بیان کرد که پلی‌مورفیسم در ژن‌های مسیر متابولیکی ۱- کربن، فرآیندهای متابولیکی مختلفی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد و همچنین بر اسپرماتوژنز مؤثر می‌باشد و ممکن است به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر کیفیت اسپرم اثر بگذارد. احتمال دارد تغییرات در این فرآیندها نتیجه اثر افزایشی ناشی از تغییر بیان ژن‌های مسیر متابولیک ۱- کربن و یا ناکافی‌بودن مکمل فولات / ریزمغذی‌ها باشد [۱۸]. اختلال در مسیرهای متابولیکی چرخه ۱- کربن به‌دلیل ترانس‌سولفوراسیون ناکافی (ازطریق موتاسیون در آنزیم CBS یا کمبود ویتامین B6) یا مسدودشدن متیلاسیون مجدد به تجمع هموسیستئین منجر می‌شود. علاوه‌براین، ممکن است کمبود فولات یا کوبالامین هم در افزایش سطح هموسیستئین مؤثر باشد و مهم‌تر از همه، یک پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی از ژن متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز واریانت C677T، فعالیت این آنزیم را تا ۵۰ درصد کاهش می‌دهد. این پلی‌مورفیسم هیدروفولات ردوکتاز واریانت C677T با افزایش غلظت هموسیستئین سرم، به‌ویژه در افراد با کمبود فولات در ارتباط است. علاوه‌بر اثر مستقیم کمبود فولات بر ساخت اسید نوکلئیک و درنتیجه تأثیر بر تکثیر سلول‌های در حال تقسیم سریع، مانند پیش‌سازهای سلول‌های زایای نر، تمام مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیکی که در سلول‌های اندوتلیال توصیف شده‌اند، درصورت کمبود فولات و متعاقب آن تجمع هموسیستئین، به‌طور مشابه در دستگاه تولیدمثلی جنس نر هم عمل می‌کنند [۵۱]. سایتوکین‌های التهابی، نظیر آن‌هایی که با افزایش غلظت هموسیستئین تحریک می‌شوند، با اختلال در پارامترهای اسپرمی و ناباروری در مردان در ارتباط هستند. پروتئین جاذب شیمیایی مونوسیت -۱ می‌تواند در التهاب بیضه نقش داشته باشد. در این حالت، غلظت اینترلوکین ۸ مایع منی به‌طور معنی‌داری در مردان با التهاب مجرای تناسلی در مقایسه با افراد سالم بالاتر است [۵۲]. علاوه‌براین، هموسیستئین فراهمی زیستی، نیتریک‌اکساید را به‌عنوان یکی از گشادکننده‌های اندوتلیومی که توسط ایزوفرم

اندوتلیالی نیتریک‌اکساید سینتاز تولید می‌شود، کاهش می‌دهد. مسیرهای سیگنالینگ نیتریک‌اکساید در نعوظ، پویایی سدّ خونی – بیضه‌ای، تحرک، ظرفیت‌یابی، واکنش آکروزومی و باروری اسپرم نقش دارند [۵۳]. بنابراین، ممکن است هر تغییری در فراهمی زیستی نیتریک‌اکساید مثلاً افزایش سطح هموسیستئین، اثر مستقیمی بر عملکرد تولیدمثلی جنس نر داشته باشد. مقدار اندکی از گونه فعال اکسیژن برای عملکرد طبیعی اسپرم و الحاق اسپرم – تخمک ضروری است. سطوح بالای گونه فعال اکسیژن باعث آسیب به DNA اسپرم خواهد شد و بر عملکرد اسپرم، باروری و تکوین اوّلیه جنین آثار منفی خواهد داشت [۵۴]. از آن‌جایی که اسپرم بیشتر سیتوپلاسم خود را طی فرآیند بلوغ از دست می‌دهد، فراهمی سیستم دفاع سیتوپلاسمی محدود می‌شود؛ بنابراین این سلول‌ها نسبت به گونه فعال اکسیژن بسیار حساسند. ازطرفی توانایی هموسیستئین در ایجاد استرس اکسیداتیو پس از تبدیل‌شدن به تیولاکتون و به‌دنبال آن فعال‌سازی تولید گونه فعال اکسیژن میتوکندریایی نشان داده شده است [۵۵] که می‌تواند در افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و به‌دنبال آن کاهش سیالیت غشای اسپرم و درنتیجه اختلال در عملکرد و کاهش باروری اسپرم مؤثر باشد [۱۸]. پلی‌مورفیسم در ژن‌های متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز (667C>T و 1298A>C) و ژن متیونین سنتاز ردوکتاز، 66A>G با ناباروری مردان در ارتباط است [۵۶]. در مدل نقص ژنتیکی از متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز در موش‌های نر ($MTHFR^{-/-}$)، سطح بالایی از هموسیستئین، کاهش تعداد سلول‌های زایا، اختلال در اسپرماتوژنز و ناباروری مشاهده شد [۵۷]. در مطالعه‌ای دیگر در موش‌های نر، نقص ژنتیکی متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز باعث هیستولوژی غیرطبیعی بافت بیضه، کاهش شدید تعداد اسپرم‌های بیضه و ناباروری شد. جالب است که این فنوتیپ می‌تواند با مصرف مکمل بتائین به‌عنوان یک ارائه‌دهنده متیل تاحدّی بازیابی شود [۵۸]. Dibakar و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان دادند که پلی‌مورفیسم‌های متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز C677T و متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز A1298C ارتباط مستقیمی با احتمال ناباروری مردان دارد. همچنین بیان کردند ژنوتیپ هتروزیگوت CT از واریانت متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز C677T ارتباط قوی با آستنوزواسپرمیا دارد و فراوانی آلل T در مردان نابارور به‌طور معنی‌داری بیشتر است. آن‌ها سطوح بالایی از گونه فعال اکسیژن در ژنوتیپ CT را برای متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز 677 و ژنوتیپ AC را برای متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز 1298 در مقایسه با ژنوتیپ طبیعی برای هردو پلی‌مورفیسم گزارش کردند و اظهار داشتند همبستگی معنی‌داری بین سطح متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز و فعالیت آنزیم متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز در مردان نابارور نسبت به مردان سالم وجود دارد. این مشاهدات را این‌گونه می‌توان شرح داد که افزایش استرس اکسیداتیو در افراد نابارور با واریانت‌های پلی‌مورفیک، به‌دلیل کاهش فعالیت آنزیم متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز و درنتیجه کاهش بازسازی گلوتاتیون نسبت به افراد با ژنوتیپ طبیعی است [۵۹]. علاوه‌براین، در مطالعه‌ای که توسط Wang و همکارانش در سال ۲۰۱۷ انجام شد، مشاهده گردید که ممکن است التهاب و استرس اکسیداتیو با ایجاد اختلال در اسپرماتوژنز و عملکرد بیضه‌ها، بیوسنتز درونی سولفید هیدروژن و فعالیت آنزیم سیستاتیونین‌بتاسنتاز مرتبط باشد. پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن نقش مهمّی را در آغاز بیان ژن‌های ضدالتهابی ایفا می‌کند. ازطرفی، التهاب و گونه فعال اکسیژن باعث فعال‌شدن پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن می‌شود که این خود موجب فسفریلاسیون پروتئین‌های پایین‌دست ازجمله P38, ERK(Extracellular signal-regulated kinases) و JNK(Jun N-terminal kinases) می‌گردد. سولفید هیدروژن با سرکوب فسفریلاسیون پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن که نقش مهمّی در تنظیم سازوکارهای دفاعی بازی می‌کند، عملکرد بیضه‌ها را حفظ می‌نماید. بنابراین، استرس اکسیداتیو، پلی‌مورفیسم‌های متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز و آسیب DNA ناشی از آن‌ها، در مجموع به‌صورت هم‌افزایی می‌توانند باعث اختلال در اسپرماتوژنز و درنتیجه افزایش خطر ناباروری در مردان شوند [۶۰]. مصرف اسیدفولیک، اسپرماتوژنز را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. در یک کارآزمایی تصادفی، مکمل اسیدفولیک به میزان ۱۵ میلی‌گرم در روز برای ۹۰ روز به افزایش ۵۳درصدی غلظت اسپرم و نسبت بالای اسپرم‌های متحرک منجر شد [۶۱]. در کارآزمایی بالینی دیگری که در آن مردان sub fertile از مکمل‌های روی، فولات، فولات + روی یا پلاسبو به‌مدت ۱۸۲ روز دریافت کردند، تعداد اسپرم در مردان sub fertile درمان‌شده با فولات + روی تا ۷۴ درصد در مقایسه با پیش از درمان افزایش یافت [۶۲]. علاوه‌براین، نشان داده شده است که مصرف فولات با شیوع کمتر آنوپلوئیدی اسپرم در ارتباط است [۶۳]. به‌طور مشابه، در مدل‌های جوندگان، مصرف رژیم غذایی با کمبود فولات به متیلاسیون متفاوت DNA اسپرم در جایگاه‌هایی منجر می‌شود که نتایج آن‌ها با کاهش میزان بارداری، افزایش سقط جنین و افزایش اختلالات آناتومیکی مستقل از وضعیت فولات مادری ارتباط دارد [۶۴]. علاوه‌براین، نتایج یک مطالعه نشان داد که در مردان نابارور با واریکوسل یک‌طرفه یا التهاب مجرای تناسلی، گلوتاتیون باعث بهبود کیفیت اسپرم شد [۶۵]. همچنین، استفاده از گلوتاتیون برون‌زا اثرات مثبت معنی‌داری بر تحرک، مورفولوژی و ساختار غشای اسپرم در مردان نابارور با دیسپرمیا

داشت [۶۶]. بنابراین، گلوتاتیون می‌تواند به‌عنوان یک مکمل درمانی احتمالی برای آسیب‌شناسی‌های آندرولوژیکی مشخص، پیشنهاد شود. گزارش‌ها نشان می‌دهند که تجویز N- استیل سیستئین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر در بازیابی منابع گلوتاتیون، بعد از واریکوسلکتومی در بهبود پارامترهای اسپرمی مبتلایان به واریکوسل بسیار کمک‌کننده بوده است [۶۷]. همچنین، استفاده از منابع برون‌زای سولفید هیدروژن، مانند GYY4137 باعث بهبود تحرک اسپرم در مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی با کمبود سولفید هیدروژن شد [۶۰]. باتوجه به این‌که تحرک اسپرم به عملکرد میتوکندری بستگی دارد، سولفید هیدروژن با مهار گونه فعال اکسیژن میتوکندریایی از اختلال در عملکرد میتوکندری و آپوپتوز ممانعت می‌کند [۶۸]. Li و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که استفاده از سدیم هیدروسولفید به‌عنوان یک ارائه‌دهنده سولفید هیدروژن، باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش سطوح گونه فعال اکسیژن در سلول‌های زایای بیضه در مواجهه با استرس حرارتی شد [۶۹]. از این‌رو، به‌نظر می‌رسد که استفاده از مکمل‌های فولات و سایر ریزمغذی‌های چرخه ۱- کربن می‌تواند بر اثرات منفی تغییرات ژنتیکی موجود در ژن‌های چرخه ۱- کربن غالب شود. مطالعاتی که در زمینه نقش چرخه ۱- کربن در باروری مردان وجود دارد، بیشتر به‌صورت پیش‌بالینی است و مطالعات بالینی چندانی در این‌زمینه وجود ندارد؛ بنابراین به تحقیقات بیشتر در آینده نیاز می‌باشد. یکی دیگر از محدودیت‌ها در مطالعه حاضر، عدم دسترسی به سایر پایگاه‌های معتبر جستجو برای یافتن مقالات مرتبط بیشتر بود.

نتیجه‌گیری

یکی از دلایل اصلی بروز ناباروری در مردان، افزایش سطح استرس اکسیداتیو است که اثرات مخربی بر ساختار و عملکرد اسپرم دارد. چرخه ۱- کربن به‌واسطه فولات و هموسیستئین نقش حیاتی در حفظ سلامت DNA اسپرم بازی می‌کند و با تولید آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا مثل گلوتاتیون و سولفید هیدروژن در حفظ هموستازی ردوکس اسپرم مؤثر است که بیانگر همبستگی بین این چرخه، روند اسپرماتوژنز و استرس اکسیداتیو است. استفاده صحیح از مکمل‌های ویتامینی، به‌ویژه ویتامین‌های گروه B، عناصر ریزمغذی، مانند روی و همچنین منابع سولفید هیدروژن می‌تواند اثرات چشمگیری بر متابولیسم چرخه ۱- کربن داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله، مراتب قدردانی و تشکر خود را از پرسنل و مسؤولان پژوهشگاه رویان ابراز می‌نمایند.

References:

[1] lare CE, Brassington AH, Kwong WY, Sinclair KD. One-Carbon Metabolism: Linking Nutritional Biochemistry to Epigenetic Programming of Long-Term Development. ***Annu Rev Anim Biosci.*** 2019; 7: 263-87.

[2] Angier RB, Boothe JH, Hutchings BL, Mowat JH, Semb J, Stokstad EL, et al. Synthesis of a compound identical with the l. casei factor isolated from liver. ***Science*** 1945; 102(2644): 227-8.

[3] Bailey SW, Ayling JE. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2009; 106(36): 15424-9.

[4] Ducker GS, Rabinowitz JD. One-Carbon Metabolism in Health and Disease. ***Cell Metab*** 2017; 25(1): 27-42.

[5] Lyon P, Strippoli V, Fang B, Cimmino L. B Vitamins and One-Carbon Metabolism: Implications in Human Health and Disease. ***Nutrients*** 2020; 12(9): 2867.

[6] Li F, Feng Q, Lee C, Wang S, Pelleymounter LL, Moon I, et al. Human betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT) and BHMT2: common gene sequence variation and functional characterization. ***Mol Genet Metab*** 2008; 94(3): 326-35.

[7] Xu J, Sinclair KD. One-carbon metabolism and epigenetic regulation of embryo development. ***Reprod Fertil Dev*** 2015; 27(4): 667-76.

[8] Kruman II, Fowler AK. Impaired one carbon metabolism and DNA methylation in alcohol toxicity. ***J Neurochem*** 2014; 129(5): 770-80.

[9] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. ***Nat Biotechnol*** 2010; 28(10): 1057-68.

[10] Nunes SC, Serpa J. Glutathione in Ovarian Cancer: A Double-Edged Sword. ***Int J Mol Sci*** 2018; 19(7): 1882.

[11] Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. ***Neurochem Int*** 2013; 63(5): 492-7.

[12] Kolluru GK, Shen X, Yuan S, Kevil CG. Gasotransmitter Heterocellular Signaling. ***Antioxid Redox Signal*** 2017; 26(16): 936-60.

[13] Banerjee R, Zou CG. Redox regulation and reaction mechanism of human cystathionine-beta-synthase: a PLP-dependent hemesensor protein. ***Arch Biochem Biophys*** 2005; 433(1): 144-56.

[14] Miles EW, Kraus JP. Cystathionine beta-synthase: structure, function, regulation, and location of homocystinuria-causing mutations. ***J Biol Chem*** 2004; 279(29): 29871-4.

[15] Taoka S, Banerjee R. Characterization of NO binding to human cystathionine beta-synthase: possible implications of the effects of CO and NO binding to the human enzyme. ***J Inorg Biochem*** 2001; 87(4): 245-51.
[16] Gao XH, Krokowski D, Guan BJ, Bederman I, Majumder M, Parisien M, et al. Quantitative H2S-mediated protein sulfhydration reveals metabolic reprogramming during the integrated stress response. ***Elife*** 2015; 4: e10067.
[17] Dickhout JG, Carlisle RE, Jerome DE, Mohammed-Ali Z, Jiang H, Yang G, et al. Integrated stress response modulates cellular redox state via induction of cystathionine γ-lyase: cross-talk between integrated stress response and thiol metabolism. ***J Biol Chem*** 2012; 287(10): 7603-14.
[18] Singh K, Jaiswal D. One-carbon metabolism, spermatogenesis, and male infertility. ***Reprod Sci*** 2013; 20(6): 622-30.
[19] Barati E, Nikzad H, Karimian M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. ***Cell Mol Life Sci*** 2020; 77(1): 93-113.
[20] Gomez E, Buckingham DW, Brindle J, Lanzafame F, Irvine DS, Aitken RJ. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. ***J Androl*** 1996; 17(3): 276-87.
[21] Said TM, Agarwal A, Sharma RK, Mascha E, Sikka SC, Thomas AJ Jr. Human sperm superoxide anion generation and correlation with semen quality in patients with male infertility. ***Fertil Steril*** 2004; 82(4): 871-7.
[22] Agarwal A, Hamada A, Esteves SC. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. ***Nat Rev Urol*** 2012; 9(12): 678-90.
[23] Bisht S, Faiq M, Tolahunase M, Dada R. Oxidative stress and male infertility. ***Nat Rev Urol*** 2017; 14(8): 470-85.
[24] Persa C, Pierce A, Ma Z, Kabil O, Lou MF. The presence of a transsulfuration pathway in the lens: a new oxidative stress defense system. ***Exp Eye Res*** 2004; 79(6): 875-86.
[25] Morellato AE, Umansky C, Pontel LB. The toxic side of one-carbon metabolism and epigenetics. ***Redox Biol*** 2021; 40: 101850.
[26] Xiao W, Loscalzo J. Metabolic Responses to Reductive Stress. ***Antioxid Redox Signal*** 2020; 32(18): 1330-47.
[27] Pearce K. Nutritional Supplementation for the Treatment of Male Infertility. Nutrition, Fertility, and Human Reproductive Function: CRC Press; 2015. p. 252-73.
[28] Adeoye O, Olawumi J, Opeyemi A, Christiania O. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. ***JBRA Assist Reprod*** 2018; 22(1): 61-6.
[29] Kamoun P, Belardinelli MC, Chabli A, Lallouchi K, Chadefaux-Vekemans B. Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. ***Am J Med Genet A*** 2003; 116A(3): 310-1.
[30] Wang R. Two's company, three's a crowd: can H2S be the third endogenous gaseous transmitter?. ***FASEB J*** 2002; 16(13): 1792-8.
[31] Yonezawa D, Sekiguchi F, Miyamoto M, et al. A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium. ***Toxicology*** 2007; 241(1-2): 11-18.
[32] Dattilo M. The role of host defences in Covid 19 and treatments thereof. ***Mol Med.*** 2020; 26(1): 90.
[33] Panagaki T, Randi EB, Augsburger F, Szabo C. Overproduction of H_2S, generated by CBS, inhibits mitochondrial Complex IV and suppresses oxidative phosphorylation in Down syndrome. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2019; 116(38): 18769-71.
[34] Fu M, Zhang W, Wu L, Yang G, Li H, Wang R. Hydrogen sulfide (H2S) metabolism in mitochondria and its regulatory role in energy production. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2012; 109(8): 2943-8.
[35] Cao X, Ding L, Xie ZZ, et al. A Review of Hydrogen Sulfide Synthesis, Metabolism, and Measurement: Is Modulation of Hydrogen Sulfide a Novel Therapeutic for Cancer?. ***Antioxid Redox Signal*** 2019; 31(1): 1-38.
[36] Jha S, Calvert JW, Duranski MR, Ramachandran A, Lefer DJ. Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury: role of antioxidant and antiapoptotic signaling. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2008; 295(2): H801-6.
[37] Yang G, Zhao K, Ju Y, et al. Hydrogen sulfide protects against cellular senescence via S-sulfhydration of Keap1 and activation of Nrf2. ***Antioxid Redox Signal*** 2013; 18(15): 1906-19.
[38] Majid AS, Majid AM, Yin ZQ, Ji D. Slow regulated release of H2S inhibits oxidative stress induced cell death by influencing certain key signaling molecules. ***Neurochem Res*** 2013; 38(7): 1375-93.
[39] Kadlec M, Ros-Santaella JL, Pintus E. The Roles of NO and H_2S in Sperm Biology: Recent Advances and New Perspectives. ***Int J Mol Sci*** 2020; 21(6): 2174.
[40] Sugiura Y, Kashiba M, Maruyama K, Hoshikawa K, Sasaki R, Saito K, et al. Cadmium exposure alters metabolomics of sulfur-containing amino acids in rat testes. ***Antioxid Redox Signal*** 2005; 7(5-6): 781-7.
[41] Walport LJ, Hopkinson RJ, Schofield CJ. Mechanisms of human histone and nucleic acid demethylases. ***Curr Opin Chem Biol*** 2012; 16(5-6): 525-34.
[42] Heck HD, Casanova-Schmitz M, Dodd PB, Schachter EN, Witek TJ, Tosun T. Formaldehyde (CH2O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH2O under controlled conditions. ***Am Ind Hyg Assoc J*** 1985; 46(1): 1-3.

[43] Chippel D, Scrimgeour KG. Oxidative degradation of dihydrofolate and tetrahydrofolate. ***Can J Biochem*** 1970; 48(9): 999-1009.
[44] Tibbetts AS, Appling DR. Compartmentalization of Mammalian folate-mediated one-carbon metabolism. ***Annu Rev Nutr*** 2010; 30: 57-81.
[45] De Brouwer V, Zhang GF, Storozhenko S, Straeten DV, Lambert WE. pH stability of individual folates during critical sample preparation steps in prevision of the analysis of plant folates. ***Phytochem Anal*** 2007; 18(6): 496-508.
[46] Burgos-Barragan G, Wit N, Meiser J, Dingler FA, Pietzke M, Mulderrig L, et al. Mammals divert endogenous genotoxic formaldehyde into one-carbon metabolism. ***Nature*** 2017; 548(7669): 549-54.
[47] Zare M, Haghpanah T, Shekari MA, Eftekhar-Vaghefi SH. The prophylactic effect of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit extract on testicular toxicity induced by formaldehyde: An experimental study. ***Int J Reprod Biomed*** 2020; 18(4): 275-86.
[48] Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. ***Nat Rev Genet*** 2007; 8(4): 253-62.
[49] Azizollahi G, Azizollahi S, Babaei H, Kianinejad M, Baneshi MR, Nematollahi-mahani SN. Effects of supplement therapy on sperm parameters, protamine content and acrosomal integrity of varicocelectomized subjects. ***J Assist Reprod Genet*** 2013; 30(4): 593-99.
[50] Virtanen HE, Jørgensen N, Toppari J. Semen quality in the 21st century. ***Nat Rev Urol*** 2017; 14(2): 120-30.
[51] Forges T, Monnier-Barbarino P, Alberto JM, Guéant-Rodriguez RM, Daval JL, Guéant JL. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. ***Hum Reprod Update*** 2007; 13(3): 225-38.
[52] Aubry F, Habasque C, Satie AP, Jégou B, Samson M. Expression and regulation of the CC-chemokine monocyte chemoattractant protein-1 in rat testicular cells in primary culture. ***Biol Reprod*** 2000; 62(5): 1427-35.
[53] Miraglia E, De Angelis F, Gazzano E, Hassanpour H, Bertagna AT, Aldieri E, et al. Nitric oxide stimulates human sperm motility via activation of the cyclic GMP/protein kinase G signaling pathway. ***Reproduction*** 2011; 141(1): 47-54.
[54] Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni S. What an andrologist/urologist should know about free radicals and why. ***Urology*** 2006; 67(1): 2-8.
[55] Aitken RJ. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. ***Mol Reprod Dev*** 2017; 84(10): 1039-52.
[56] Raigani M, Lakpour N, Soleimani M, Johari B, Sadeghi MR. A Association of *MTHFR* C677T and *MTRR* A66G Gene Polymorphisms with Iranian Male Infertility and Its Effect on Seminal Folate and Vitamin B12. ***Int J Fertil Steril*** 2021; 15(1): 20-25.
[57] Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. ***Nat Genet*** 1995; 10(1): 111-3.
[58] Kelly TL, Neaga OR, Schwahn BC, Rozen R, Trasler JM. Infertility in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)-deficient male mice is partially alleviated by lifetime dietary betaine supplementation. ***Biol Reprod*** 2005; 72(3): 667-77.
[59] Dibakar B, Rajeev K, Manoj K, Rima D. Characteristics of MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms in Infertile Men and Impact of 3 Weeks of Yoga on MTHFR gene Expression: A Clinical Case Report. ***Am J Clin Case Rep*** 2020: 1013.
[60] Wang J, Wang W, Li S, et al. Hydrogen Sulfide As a Potential Target in Preventing Spermatogenic Failure and Testicular Dysfunction. ***Antioxid Redox Signal*** 2018; 28(16): 1447-62.
[61] Bentivoglio G, Melica F, Cristoforoni P. Folinic acid in the treatment of human male infertility. ***Fertil Steril*** 1993; 60(4): 698-701.
[62] Wong WY, Merkus HM, Thomas CM, Menkveld R, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RP. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. ***Fertil Steril*** 2002; 77(3): 491-8.
[63] Young SS, Eskenazi B, Marchetti FM, Block G, Wyrobek AJ. The association of folate, zinc and antioxidant intake with sperm aneuploidy in healthy non-smoking men. ***Hum Reprod*** 2008; 23(5): 1014-22.
[64] Nassan, Feiby L., and Jorge E. Chavarro. "Diet and Fertility in Men: Are Sperm What Men Eat?." Effects of Lifestyle on Men's Health. Academic Press, 2019. 41-60.
[65] Lenzi A, Sgrò P, Salacone P, et al. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. ***Fertil Steril*** 2004; 81(6): 1578-84.
[66] Lenzi A, Culasso F, Gandini L, Lombardo F, Dondero F. Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of glutathione therapy in male infertility. ***Hum Reprod*** 1993; 8(10): 1657-62.
[67] Ciftci H, Verit A, Savas M, Yeni E, Erel O. Effects of N-acetylcysteine on semen parameters and oxidative/antioxidant status. ***Urology***. 2009; 74(1): 73-6.
[68] Teng H, Wu B, Zhao K, Yang G, Wu L, Wang R. Oxygen-sensitive mitochondrial accumulation of cystathionine β-synthase mediated by Lon protease. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2013; 110(31): 12679-84.
[69] Li G, Xie ZZ, Chua JM, Wong PC, Bian J. Hydrogen sulfide protects testicular germ cells against heat-induced injury. ***Nitric Oxide*** 2015; 46: 165-71.