Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۲۰، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۷/ ۹۵-۸۲

مقاله پژوهشی

نقش پروتئین PAWP اسپرم در فرایند اسپرماتوژنز و تکوین اولیه جنین

مرضیه تولائی[۱]، نسیم قضاوی خوراسگانی[۱]، الهام جانقربان لاریچه[۱]، محمد حسین نصر اصفهانی[۱،۲*]

[۱]پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست فناوری تولیدمثل، اصفهان، ایران؛ [۲]مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱٤ تاریخ پذیرش: ۹٦/۲/۲۷

چکیده:

زمینه و هدف: **در حال حاضر، مطالعه مقالات متعدد از این مسئله حمایت می کنند که نوسانات کلسیم سیتوزولی در تخمک توسط فاکتور (فاکتورهای) اسپرمی فعال کننده تخمک میانجیگری می شود که پس از فیوژن اسپرم با غشا تخمک، به داخل تخمک رها می‌شوند. فسفولیپاز C زتا به‌عنوان مهم‌ترین فاکتور درگیر در فعال شدن تخمک در نظر گرفته شده است؛ اما مطالعات اخیر، پیشنهاد می‌کنند که پروتئین متصل شونده به دامنه ی WW صفحات خلف آکروزومی (PAWP) می‌تواند مرتبط با این رخداد باشد و نقش مهمی را در فرایند اسپرماتوژنزیز ایفا می‌کند. در این مقاله مروری، نقش PAWP در طی تکوین و ارتباط آن با ناباروری مردان بحث می‌شود.**

روش بررسی: **یک جستجوی الکترونیکی برای جمع‌آوری اطلاعات با استفاده از پایگاه‌های اطلاعات در PubMed/MEDLINE تا مارچ ۲۰۱۷ انجام شد.**

یافته‌ها: **PAWP در اسپرماتیدهای در حال طویل شدن بیان می شود و در ناحیه ی پوشش اطراف هسته سر اسپرم مستقر می گردد. بیان PAWP با کیفیت مایع منی و لقاح در مردان نابارور مرتبط است.**

نتیجه‌گیری: **ارزیابی PAWP اسپرم به‌عنوان یک شاخص ارزیابی پتانسیل لقاح یک نمونه مایع منی، افق جدیدی را در آزمایشگاه های آندرولوژی بازکرده است.**

واژه‌های کلیدی: **PAWP، اسپرماتوژنز، لقاح، تکوین جنینی، پارامترهای اسپرمی، ICSI، ناباروری.**

مقدمه:

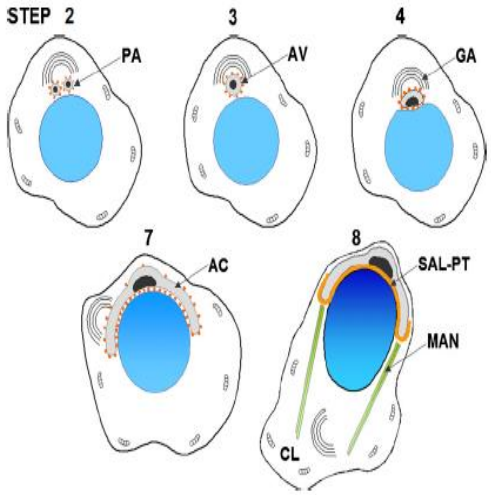
اسپرماتوژنز (Spermatogenesis) یک فرایند پیچیده است که در لوله های منی ساز اتفاق می افتد و منجر به تولید گامت نر بالغ می گردد. اسپرماتوژنز شامل سه مرحله ی اصلی اسپرماتوسیتوژنز (Spermatocytogenesis)، میوز و اسپرمیوژنز (Spermiogenesis) می باشد. اسپرماتوسیتوژنز عبارت است از تکثیر اسپرماتوگونی ها (Spermatogonia) و تمایز آن‌ها به اسپرماتوسیت ها (Spermatocyte). سپس تقسیم میوزی که در طی آن اسپرماتوسیت ها به اسپرماتیدهای (Spermatid) گرد تمایز می یابد (۲،۱). اسپرمیوژنز که خود به چهار مرحله ی گلژی (Spermatid)، کلاهک (Cap Phase)، آکروزومی (Acrosomal Phase) و بلوغ (Maturation Phase) تقسیم‌بندی می شود (۳). در مرحله ی گلژی وزیکول های پیش آکروزومی نشأت گرفته از گلژی به هم پیوسته و تبدیل به یک وزیکول بزرگ به نام وزیکول آکروزومی می گردند. وزیکول آکروزومی به سمت هسته گسترش می یابد (۴). در مرحله ی کلاهک، وزیکول آکروزومی روی غشاء هسته توسعه بیشتر کرده و بیش از نیمی از قسمت قدامی هسته را می پوشاند و کلاهکی به نام کلاهک رأسی را بر روی هسته تشکیل می دهد (۴). در

*نویسنده مسئول: اصفهان- پژوهشگاه رویان- پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی- مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل- گروه زیست فناوری تولید مثل- تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵٦۸۲، E-mail: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

www.SID.ir

Archive of SID

مرحله ی آکروزومی در لبه ی خلفی کلاهک رأسی، استوانه ای از میکروتوبول ها به نام مانشت (Manchette) تشکیل می شود و همزمان با گسترش آن اسپرماتید طویل می گردد (۵). درنهایت در مرحله ی بلوغ، سیتوپلاسم اضافی از سلول جدا شده و تنها لایه ی نازکی از سیتوپلاسم به‌صورت پوششی روی هسته، قطعه ی میانی و قطعه ی دمی اسپرماتوزوآی (Spermatozoa) آینده باقی می ماند (۵). اسپرماتوزوآی بالغ شامل یکسر می باشد که توسط گردن کوتاه به دم متصل شده است. سر شامل هسته ی متراکم و آکروزوم می باشد (۶). پوشش دور هسته ای (Perinuclear theca) جزء اصلی اسکلت سلولی در سر اسپرم می باشد که حاوی یک لایه‌ی پروتئینی سیتوزولی متراکم است که هسته ی اسپرم پستانداران را جز در ناحیه ی دمی هسته احاطه می کند. پوشش دور هسته ای لایه ای مقاوم به دترجنت های غیر یونی می باشد که از نظر ترکیبی می تواند به سه منطقه ی لایه ی زیر آکروزومی (Subacrosomal Layer)، بخش استوایی (Equatorial Segment) و صفحه ی خلف آکروزومی (Post Acrosomal Sheath) تقسیم شود (۷). تشکیل لایه ی زیر آکروزومی و صفحه ی خلف آکروزومی فرایندهای مستقلی هستند که طی اسپرمیوژنز با تقدم و تأخر تشکیل می شوند (۸). پوشش دور هسته ای در ناحیه ی رأسی، بین غشای داخلی آکروزوم و غشای هسته، لایه ی زیر آکروزومی را می سازد، در حالی که اگر در قسمت انتهایی بین پلاسمالما و غشای هسته قرار گیرد "صفحه ی خلف آکروزومی" را می سازد (۱۰،۹). پوشش دور هسته ای لنگرگاهی از پروتئین هایی است که شواهد نشان می دهد در اسپرمیوژنز و لقاح ضروری می باشد (۹). بررسی ویژگی های این پروتئین ها دو عملکرد برای ناحیه ی پوشش دور هسته ای پیشنهاد می کند: ۱- تشکیل آکروزوم که توسط لایه ی زیر آکروزومی صورت می گیرد. ۲- واکنش اسپرم- تخمک در طی لقاح که توسط صفحه ی خلف آکروزومی انجام می شود (۷). پروتئین های لایه ی زیر آکروزومی، توسط وزیکول های پروآکروزومی و آکروزومی طی فازهای گلژی و کلاهک اسپرمیوژنز در جایگاه خود در این ناحیه قرار می گیرند (۹،۷) (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: مسیر پیشنهادی برای اجتماع پروتئین‌های لایه‌ی زیر آکروزومی پوشش دور هسته‌ای در طی مراحل اولیه‌ی اسپرماتوژنز گاو

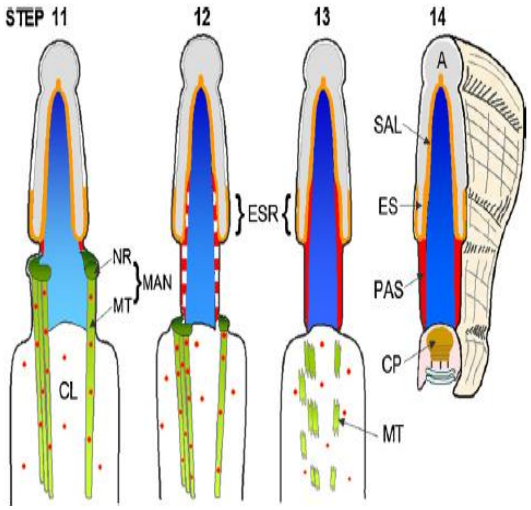
پروتئین‌های لایه‌ی زیرآکروزومی در طی فازهای گلژی (مراحل ۲ و ۳) و کلاهک (مراحل ٤ و ۷) در اسپرماتوژنز نشان داده شده است که به سمت انتهای فاز کلاهک و شروع طویل سازی اسپرماتید (مرحله ی ۸)، از سطح غشای خارجی آکروزوم ناپدید شده اما در سراسر ناحیه ی استوایی و زیر غشای آکروزومی داخلی حفظ می‌شود. (به‌صورت مکعب‌های نارنجی رنگ شده). هسته به رنگ آبی نشان داده شده است (مرحله ی۷)؛ PA: گرانول‌های پروآکروزومی، AV: وزیکول آکروزومی، GA: دستگاه گلژی، AC: کلاهک آکروزومی، MAN: مانشت، CL: لوب سیتوپلاسمی.

درست زمانی که لایه ی زیر آکروزومی به‌منظور تشکیل آکروزوم ظاهر می شود، صفحه ی خلف آکروزومی نیز با تشکیل مانشت میکروتوبولی همزمان با طویل شدن اسپرماتید ظهور می یابد (۷). بیشتر پروتئین های یافت شده در صفحه ی خلف آکروزومی در لوب سیتوپلاسمی اسپرماتیدهای طویل شده سنتز می شود و برای جایگیری و تشکیل نهایی در ناحیه ی خلف آکروزومی از طریق مانشت انتقال

www.SID.ir

Archive of SID

می یابند (۱۱،۷) (تصویر شماره ۲). مانشت در ذخیره‌سازی و انتقال پروتئین های صفحه ی خلف آکروزومی سودمند است (۱۲).



تصویر شماره ۲: مسیر پیشنهادی اجتماع پروتئین های صفحه ی خلف آکروزومی (نقاط قرمز) در طی فاز طویل سازی اسپرمیوژنز گاو

NR: حلقه ی هسته مانشت، A: آکروزوم، CP: بخش اتصال دهنده‌ی دم اسپرم.

تغییرات روشنی به تاریکی سایه ی آبی رنگ، تراکم هسته را نشان می دهد که در مراحل ۱۱ و ۱۲ اسپرماتید همراه با پیدایش مانشت میکروتوبولار (MAN) رخ می دهد میکروتوبول های (MT) مانشت در مرحله ی ۱۳ متلاشی می شوند. مانشت به‌صورت یک جایگاه ذخیره و مسیر انتقال برای پروتئین های صفحه ی خلف آکروزومی به کار می رود. در ابتدا تعدادی از پروتئین های صفحه ی خلف آکروزومی، فضا را با لایه ی زیر آکروزومی (SAL) در بخش استوایی (ESR) تقسیم می کنند؛ اما توسط مرحله ی ۱۴ با باریک شدن بخش استوایی (ES) به صفحه ی خلف آکروزومی (اجسام قرمز) از پوشش دور هسته ای محدود می شوند (۷).

روش های متفاوت استخراج پروتئین های پوشش دور هسته ای، منجر به شناسایی و معرفی پروتئین های SubH2Bv، هیستون های هسته ی سوماتیک و Postacrosomal Sheath WW1 Domain Binding Protein (PAWP) شد که به نظر می رسد، نقش هایی صرفاً بیشتر از اسکلت سلولی داشته باشند (۱۲،۱۱،۸). همانطور که گفته شد، پروتئین های صفحه ی خلف آکروزومی در برهمکنش اسپرم- تخمک در طی لقاح نقش دارند. لقاح موفق به فعال‌سازی تخمک های متوقف‌شده در متافاز میوز II، بعد از ترکیب اسپرم و تخمک بستگی دارد. ادغام اسپرم با تخمک از بخش استوایی سر اسپرم آغازشده و به ناحیه ی خلف آکروزومی پوشش دور هسته ای، ناحیه ای که برای اولین بار در معرض اووپلاسم (Ooplasm) قرار می گیرد، ادامه می یابد (۱۳). در طی لقاح و فعال‌سازی تخمک، یکسری رویدادهای سلولی و مولکولی اتفاق می افتد که انتقال تخمک از یک گامت هاپلوئید به یک زیگوت دیپلوئید را منجر می شود (۱۵،۱۴). این وقایع توسط آزادسازی کلسیم درون سلولی در بیشتر تخمک های جانوران آغاز می شود. نیاز اساسی برای فعال‌سازی تخمک در همه ی گونه های تاکنون مطالعه شده، افزایش در سطح کلسیم درون سلولی داخل سیتوزول تخمک می باشد (۱۷-۱۵). در برخی از افراد نابارور، پس از ورود اسپرم به داخل تخمک طی روش لقاح آزمایشگاهی In Vitro Fertilization (IVF) و یا تزریق اسپرم به داخل تخمک Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI) افزایش کلسیم داخل سیتوپلاسم تخمک رخ نداده و تخمک فعال نمی شود و تقریباً ۳٪-۲٪ افراد کاندید ICSI با شکست لقاح مواجه می شوند که علت اصلی آن عدم فعال سازی کامل تخمک می باشد. در این افراد فعال سازی مصنوعی تخمک Artificial Oocyte Activation (AOA) به همراه تکنیک ICSI می تواند باعث افزایش میزان لقاح و فعال سازی تخمک بشود (۱۹،۱۸).

www.SID.ir

Archive of SID

Whitaker اذعان داشته اند که در تخمک های پستانداران، کلسیم به دنبال اتصال اینوزیتول ۵،۴،۱ تری فسفات (Inositol 1,4,5 triphosphate) (IP_3) با رسپتورهای اینوزیتول ۵،۴،۱ تری فسفات Inositol 1,4,5 triphosphate Receptors (IP_3R) در غشای شبکه ی اندوپلاسمی آزاد می شود. یافته های این مطالعه با داده های اولیه ی پیشنهادی مشابه است که به‌محض لقاح، یک فاکتور پروتئینی در اسپرم به درون تخمک وارد می شود و سپس منجر به تولید IP_3 می گردد. اکنون به‌خوبی ثابت شده که پروتئین کیناز Protein Kinase C (PKC) C، پروتئین وابسته به کلسیم- کالمادولین کیناز ۲ Calcium-Calmodulin Kinase 2 (CaMK2) و پروتئین کیناز فعال‌کننده‌ی میتوژن Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK)، همگی به جهت عامل آبشار سیگنالی پایین دست، در یک تخمک فعال‌شده، توسط رهاسازی کلسیم ضروری هستند (۲۰،۱۳). امروزه به‌طور گسترده ای پذیرفته شده است که اسپرم پستانداران بعضی فاکتور (فاکتورهای) پروتئینی اختصاصی را بعد از اتصال به تخمک، به درون سیتوپلاسم تخمک رها می سازد و این فاکتور (فاکتورها) نوسانات کلسیم را راه اندازی می کند؛ اما هنوز مشخص نیست که کدام فاکتور (فاکتورهای) اسپرمی بالادست آزادسازی کلسیم درون سلولی جهت آغاز فرایند فعال‌سازی عمل می کند. فاکتور اسپرمی منتخب باید توانایی آزادسازی کلسیم را در تخمک در طی لقاح پستانداران داشته باشد. خانواده ی فسفولیپاز C (PLC)، پروتئین های آنزیمی سیتوزولی هستند که هیدرولیز فسفاتیدیل اینوزیتول ۴، ۵ بیس فسفات Phosphatidyl Inositol 4,5 bisphosphate (PIP_2) را به تولید IP_3 و دی آسیل گلیسرول Diacylglycerol (DAG) کاتالیز می کنند. IP_3 با اتصال به IP_3R در سطح شبکه ی اندوپلاسمی، باعث رهاسازی کلسیم می شود؛ در حالی که دی آسیل گلیسرول و کلسیم مسیر پروتئین کیناز C (PKC) را فعال می کنند که این گونه سیگنال های کلسیمی پاسخ های سلولی تغییر می کنند یا برگردانده می شوند (۲۱).

برای اینکه یک پروتئین به‌عنوان فاکتور فعال‌سازی تخمک (Sperm-born Oocyte Activating Factor) در نظر گرفته شود باید خواص عملکردی و تکاملی ویژه ای داشته باشد (۲۲).

انتظار می رود فعال‌سازی تخمک (افزایش Ca^{2+} داخل سلولی) به دنبال ریز تزریق cRNA یا پروتئین نوترکیب آن به تخمک اتفاق افتد.

فعال‌سازی تخمک القاشده با اسپرم، باید بتواند به‌وسیله آنتی‌بادی‌های مربوطه و پپتیدهای رقابتی مشتق از یک کاندیدای فاکتور فعال‌سازی تخمک متوقف گردد.

با توجه به اینکه تزریق سر اسپرم تیمار شده با تریتون X100 که تنها محتوی هسته و غلاف دور هسته ای است برای فعال‌سازی کامل تخمک پستانداران و رشد جنین کافی می باشد و اولین قسمتی است که وقتی اسپرم به سیتوپلاسم تخمک وارد می گردد محلول می شود، عامل فعال‌کننده‌ی تخمک با منشاء اسپرمی باید در بخش خلف آکروزومی غلاف دور هسته ای اسپرم وجود داشته باشد.

دو پروتئین گلوکز آمین ۶ فسفات ایزومراز Glucosamine-6-phosphate Isomerase (GPI) و سیترات سنتاز در ابتدا به‌عنوان کاندید فاکتور فعال‌سازی تخمک در نظر گرفته شدند اما بلافاصله رد شدند (۲۴،۲۳). در مطالعات دیگر یک شکل کوتاه شده از گیرنده‌ی c-kit به نام Truncated kit (tr-kit)، به‌عنوان فاکتور اسپرمی فعال‌کننده ی تخمک پیشنهاد شد که قسمت داخل سلولی و کوتاه شده از پروتئین c-kit می‌باشد و به‌عنوان گیرنده ی تیروزین کیناز درون غشایی عمل می‌کند. Sette و همکاران نشان دادند که ریز تزریق پروتئین و یا RNA ی مکمل tr-kit Complementary RNA (cRNA) به درون تخمک‌های موش، موجب فعال‌سازی آن خواهد شد (۲۵).

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین Sutovsky و همکاران پیشنهاد کردند که پروتئین های دیگری ازجمله اجزای ماتریکس دور هسته‌ای می توانند به‌عنوان فاکتور اسپرمی در نظر گرفته شوند. هرچند شواهد تأییدی مبنی بر اینکه این پروتئین‌ها منجر به آزادسازی کلسیم در تخمک‌ها شوند، وجود ندارد (۲۶). PLCζ1 سریعاً در میان اجتماع علمی و کلینیکی به‌عنوان کاندید فاکتور فعال‌سازی تخمک به‌طور برجسته مورد حمایت قرار گرفت. اثبات شواهد بیوشیمیایی و کلینیکی هنوز به PLCζ به‌عنوان پروتئین غالب برای فعال‌سازی تخمک طی لقاح اشاره می کند (۲۸،۲۷،۱۳). اخیراً PLCζ در افراد نابارور که قبلاً با شکست لقاح مواجه بودند و همچنین افراد نابارور با واریکوسل مورد ارزیابی قرار گرفته و مشخص شده است که در این افراد سطح بیان PlCζ به‌طور معنی داری نسبت به افراد بارور کاهش یافته؛ لذا یک علت عدم باروری در این افراد امکان دارد، به دلیل کاهش یا عدم فاکتور اسپرمی فعال‌کننده تخمکی باشد (۲۹،۲۷). در حال حاضر بیشتر مقالات کاندید اصلی فاکتور اسپرمی فعال‌کننده تخمک را PLCζ می دانند. این در حالی است که در سال های اخیر کاندید جدیدی، به نام پروتئین شبیه WBP2 N-terminal (WBP2NL) با نام عمومی PAWP مورد توجه قرار گرفت.

PAWP در غلاف خلف آکروزومی از سر اسپرم جای گرفته می شود و هنگام تزریق پروتئین نوترکیب آن به داخل تخمک، نوسانات کلسیم را در پی دارند (۸). اثبات شده است که کاندید فاکتور فعال‌سازی تخمک نبایستی فقط در پری نوکلئار تکا مستقر باشد بلکه تا اتصال کامل غشای اسپرم- تخمک در طی لقاح نیز بایستی حفظ شود (۳۰). PAWP ازجمله فاکتورهایی است که تا زمان تشکیل پرونوکلئوس ها وجود دارد (۱۶،۱۲،۸). همچنین مطالعه ای اشاره می کند که PAWP اسپرم برای آغاز نوسانات کلسیم تخمک در طول لقاح و تکوین اولیه ی جنین انسان و موش ضروری است (۱۶). با توجه به اهمیت پروتئین PAWP در طی فرایند اسپرماتوژنز، لقاح و تکوین اولیه جنین، در ادامه شرح کامل این پروتئین و عملکرد آن در ناباروری پرداخته می شود.

روش بررسی:

جهت این مقاله مروری از مقالات جستجو شده در پایگاه‌های اطلاعاتی Pubmed، ISI و Scoops از سال ۱۹۹۴ تا سال ۲۰۱۷ استفاده شد. کلید واژه‌های به‌کاررفته در این مقاله شامل، فعال شدن تخمک، پری نوکلئار تکا، PAWP، WBP2، لقاح، گامتوژنز، ناباروری، تکوین جنین، اسپرماتوژنز و ICSI است.

یافته‌ها:

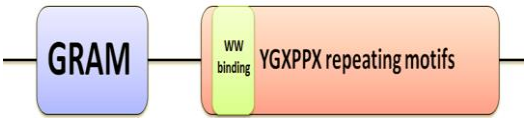
پروتئین PAWP برای اولین بار توسط Wu و همکاران، بر اساس یک تحقیق پروتئومیکس در پوشش دور هسته ای از سر اسپرم طبیعی انسان استخراج و جداسازی شد. PAWP از پروتئین های اختصاصی بیضه است. نتایج مطالعه ی Wu و همکاران پیشنهاد کردند که PAWP عمدتاً اثراتش را بر روی تشکیل پوشش دور هسته ای توسط میان کنش با یک پروتئین محتوی دومین WW1 در تخمک انجام می دهد (۸). ژن کد کننده PAWP در انسان بر روی کروموزوم ۲۲ جایگاه 22q13.2 قرار دارد. این ژن دارای ۶ اگزون است و رونوشت این ژن حاوی ۲۳۳۰ نوکلئوتید می‌باشد. بخشی از اگزون ۱ و ۶ آن به‌صورت ناحیه غیر ترجمه‌ای بوده و پروتئین بیانی آن ۳۰۹ اسیدآمینه دارد (۳۱).

PAWP یک پروتئین آلکالینی است که ساختار آن تشکیل شده از یک نیمه‌ی انتهایی N مشابه با پارالوگ آن یعنی، WBP2 (GeneTree ENSGT00530000063718) و همچنین یک نیمه‌ی انتهایی C که شامل موتیف های PPXY و ۹ تکرار YGXPPXG است که اجازه برهمکنش با پروتئین های دومین گروه WW1 را به آن می دهد (تصویر شماره ۳). در حقیقت به نظر می رسد موتیف تکراری YGXPPXG همراه با موتیف PY تنها ویژگی حفظ شده نیمه C-terminal از PAWP بین

www.SID.ir

Archive of SID

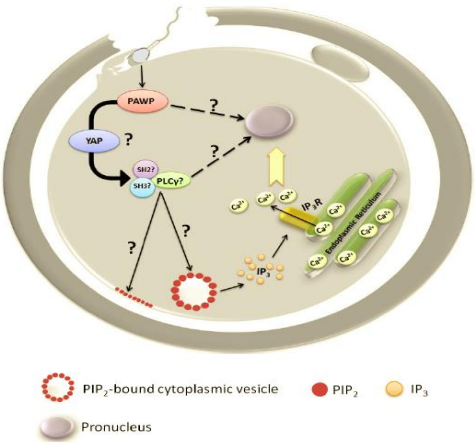
گونه ها می‌باشد که دلالت بر میانکنش این پروتئین با دومین WWI دارد (۳۱). تغییرپذیری در ناحیه ی C- ترمینال PAWP ممکن است محوری از تفاوت خصوصیات در مورفولوژی سر اسپرم و موقعیت مولکولی پوشش دور هسته ای باشد. پروتئین های محتوی دومین WW تشخیص داده شدند که در یک طیف وسیعی از رویدادهای سلولی شامل کنترل چرخه ی سلولی، اتصال یوبی کوئیتین و فعالیت رونویسی درگیر هستند (۳۳،۳۲،۸). درگیری YAP65 در کنترل رونویسی و co-activation الزامی توسط پروتئین های حاوی PY، PEBP2 و WBP2 این احتمال وجود دارد که PAWP موجود در اسپرم بتواند تعدادی جهات رونویسی اولیه ی زیگوت را میانجی گری کند (۳۵،۳۴،۸).



تصویر شماره ۳: ساختار پروتئین PAWP با موتیف های تکراری YGXPPX ناحیه ی متصل به WW (۳۶)

PAWP از طریق موتیف های PY قادر به اتصال به دومین های WW1 گوناگون شامل YAP، Nedd4 و دیستروفین می باشد. میانکنش PAWP-WW1 به‌شدت اختصاصی بوده، به‌گونه‌ای که توسط جهش های نقطه ای گوناگون در دومین WW1 یا موتیف های PY، این میانکنش از بین می رود (۸). دومین های WW پس از اینکه دو دنباله ی تریپتوفان شدیداً حفاظت شده‌شان، که دومین های عملکردی کوچک نامیده می شوند، در پروتئین های سیگنالی یافت شدند، میانجی‌تر برهم‌کنش‌های پروتئین-پروتئین می باشند (۳۲،۸). PAWP گاوی که توسط WW binding protein 2 N-terminal like (Wbp2nl) کد شده (پروتئین ۲ متصل به دومین WW مشابه N- ترمینال)، می تواند از سرگیری مجدد میوز و تشکیل پرونوکلئوس ها را در تخمک های دوزیستان، خوک و میمون توسط ریز تزریق PAWP نوترکیب القا کند و رقابت آنتی‌بادی‌ها یا پپتیدها یا موتیف PPXY این فعالیت را بلاک می کند (۱۱). به علت بیان wbp2 در بیضه ی پستانداران، Satouh و همکاران یک آنالیز فیلوژنتیک شناسایی پروتئین PAWP/wbp2 انجام دادند. این نشان داد که پروتئین های wbp2 در بین گونه ها حفاظت شده هستند، اما PAWP رت و موش شامل ۶ موتیف ppxy می باشد؛ در حالی که پارالوگ های wbp2 کمتر از این موتیف می باشد. در مقایسه با درگیری مستقیم PLCζ1 در متابولیسم IP3، مکانیسم توسط PAWP/wbp2 و عملکرد دومین ppxy در فعال‌سازی تخمک هنوز واضح نیست (۳۷).

PAWP هیچ فعالیت آنزیمی پیشنهاد شده‌ای ندارد، ولی دارای فعالیت هیدرولیتیکی PLC و توانایی برای عمل کردن به‌عنوان فعال‌کننده‌ی ژنتیکی را دارا می باشد. بنابراین فرض شده است که PAWP اثراتش را در تخمک توسط برهم‌کنش با دیگر پروتئین ها میانجی‌گری می کند. الزام PLCγ برای فعال‌سازی موفق تخمک به‌خوبی شناخته شده است، اما هنوز واضح نیست که چگونه فاکتور فعال‌سازی تخمک مشتق شده از اسپرم ممکن است PLCγ را فعال کند (تصویر شماره ۴).



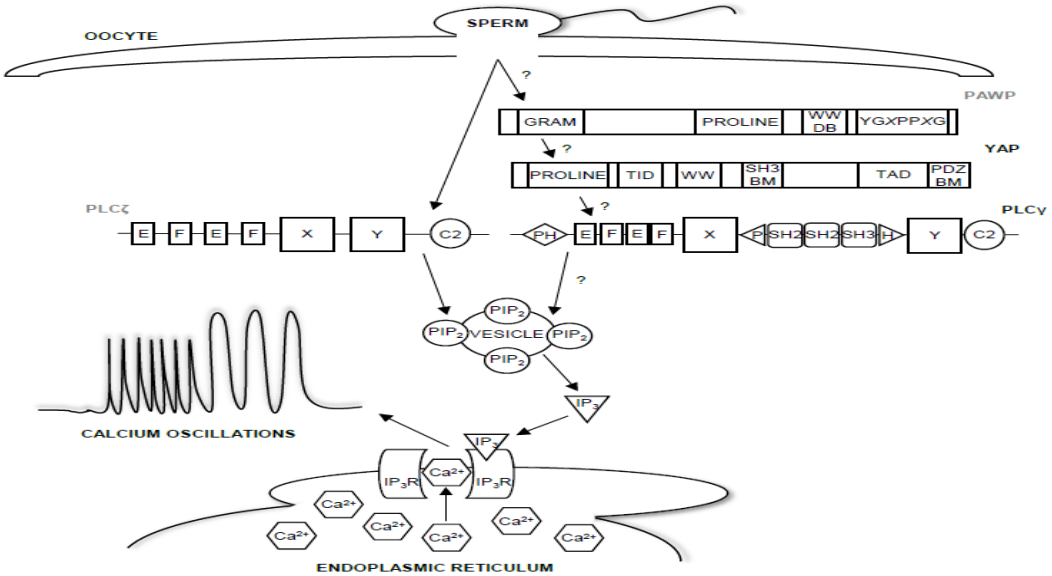
تصویر شماره ۴: مسیرهای احتمالی افزایش کلسیم داخل تخمک توسط PAWP (۳۶)

www.SID.ir

Archive of SID

احتمالاً PAWP با برهم‌کنش با پروتئین های مرتبط با YAP عمل می کند که از طریق Src-like kinase فعال شدن PLCγ را به همراه دارد. نتایج مطالعه ی Aarabi و همکاران به درگیری مدل PPXY/WW1 در آغاز مسیر سیگنالی فعال‌سازی تخمک پستانداران و دوزیستان اشاره می کند (۱۶). این واضح است که PLCγ تخمک برای رهاسازی کلسیم در طول لقاح بی‌مهرگان شرکت می کند. به دنبال آزادسازی PAWP به داخل تخمک در مراحل نهایی لقاح، پیشنهاد می شود که PAWP، فعالیت اندوژن PLCγ تخمک را از طریق دومین های SH_2 یا SH_3 خود تعدیل کند. ریز تزریق دومین SH_2 نوترکیب PLCγ مشتق شده از تخمک، رهاسازی کلسیم القا شده توسط اسپرم و لقاح در تخمک های ستاره ی دریایی و نرم تنان را بلاک می کند (۳۸،۱۶). پس از فعال شدن PLCγ، PIP2 توسط PLCγ به IP_3 و دی آسیل گلیسرول شکسته می شود. سپس IP_3 آزادسازی کلسیم را از شبکه ی اندوپلاسمی از طریق القا به رسپتورهای IP3 بر روی این شبکه راه‌اندازی می کند (۱۷،۱۶). هرچند فعال‌سازی PLCγ از طریق دومین SH_2 در طول لقاح مهره‌داران بحث‌برانگیز بود؛ اما مطالعات نشان داد حتی غلظت بالای دومین SH_2 ی PLCγ قادر نیست آزادسازی کلسیم و فعال‌سازی تخمک را در زئوپوس و موش بلاک کند (۳۹،۱۶). چون بعضی پروتئین های دومین WW1 مثل Yes-associated protein (YAP) به‌عنوان یک پروتئین واکنش‌دهنده با PAWP، به‌طور زیادی در تخمک بیان می شوند و یک موتیف متصل شونده به SH_3 را دارا می باشند، این ممکن است PLCγ به‌طور غیرمتعارفی از طریق دومین SH_3 خودش برای شکستن PIP_2 در طول لقاح مهره‌داران فعال شود (۴۰،۱۶). نمونه هایی برای فعال‌سازی PLCγ از طریق SH_3 مستقل از دومین SH_2 تیروزین فسفوریلاسیون به‌وسیله‌ی تیروزین کیناز در هردوی تخمک های زنوپوس و نورون های انسان وجود دارد (۴۲،۴۱،۱۶) (تصویر شماره ۵).

بر اساس نتایج گزارش شده، اختلال در مسیر سیگنالی PAWP موجب جلوگیری از گذر متافاز– آنافاز کروموزوم‌های تخمک و همچنین عدم تشکیل پیش هسته می شود که منجر به توقف رشد و تکوین جنین می‌گردد. بنابراین این امکان وجود دارد که مسیر PAWP-WW1 تنظیم تیروزین کیناز دوک میوزی تخمک یا فاکتورهای بازسازی مجدد کروماتین نر را مورد هدف قرار دهد (۸).



تصویر شماره ۵: مسیر سیگنالی فاکتور **PAWP** اسپرمی دخیل در فعال شدن تخمک (۱۳)

www.SID.ir

Archive of SID

بیان پروتئین PAWP در طی مرحله ی اسپرماتوژنز

نتایج مطالعه Satouh و همکاران نشان می دهد که PAWP یک نقش ضروری در اسپرماتوژنز یا تشکیل سر در طی مراحل انتهایی اسپرمیوژنز در بیضه ی موش، گاو و انسان ایفا می کند (۳۷). دیگر مشاهدات بر روی موش و رت همچنین ثابت کرد که PAWP در طی اسپرمیوژنز در غلاف خلف آکروزومی پوشش دور هسته ای تشکیل می شود. مشابه با دیگر پستانداران، PAWP از اسپرماتیدهای طویل شده انسانی منشاء و در PAS-PT جای می گیرد (۳۰،۱۲،۸). همچنین اخیراً گزارش شده که بیان اولیه ی PAWP در انسان، میمون رزوس، موش، گاو، خوک و خرگوش در طی مرحله ی طویل سازی اسپرماتید اتفاق می افتد (۳۶،۱۶،۱۲،۸).

Kimura و همکاران توانایی اسپرم را به‌منظور فعال‌سازی تخمک توسط تزریق سر یا دم از اسپرم موش به تخمک های موش را بررسی کردند و دریافتند که سر اسپرم فعال‌سازی تخمک را القا می کند و دم اسپرم قادر به فعال‌سازی تخمک نیست (۴۳). بنابراین به‌منظور شناسایی ناحیه ی اختصاصی سر اسپرم برای فعال‌سازی تخمک اثبات کردند که سرهای اسپرم تیمار شده با تریتون X100 توانایی فعال‌سازی تخمک را حفظ می کنند؛ در حالی که سرهای اسپرم تیمار شده با تریپسین یا SDS توانایی فعال‌سازی تخمک را از دست می دهند (۴۳،۱۳). شواهد میکروسکوپی آشکار کرد که تیمار با تریتون همه ی غشاء به‌جز پوشش دور هسته ای از بین می رود اما تیمار با تریپسین یا SDS شدیداً پوشش دور هسته ای را از بین می برد (۴۵،۴۴،۱۳). در این راستا، Wu و همکاران و Aarabi و همکاران با بررسی اسپرماتیدها طی اسپرمیوژنز در موش و گاو اثبات کردند که پروتئین PAWP مانند سایر پروتئین های صفحه ی خلف آکروزومی در مراحل طویل سازی اسپرماتیدها در لوب سیتوپلاسمی سنتز شده و به‌وسیله‌ی مانشت انتقال یافته و در مکان اصلی خود در صفحه ی خلف آکروزومی استقرار می یابد (۲۲،۸). PAWP به‌عنوان یک جز از غلاف خلف آکروزومی پوشش دور هسته ای در اسپرم گاو، موش، رت، انسان، میمون، خوک و خرگوش یافت شد (۸). Satouh و همکاران آنالیز عملکردی حذف ژن PAWP در موش را گزارش کردند. آن ها گزارش کردند که جایگاه PAWP در طی اسپرماتوژنز تغییر می کند. قبل از طویل سازی، PAWP در سیتوپلاسم اضافی اسپرماتید قرار دارد و سپس همراه با مانشت میکروتوبولی مهاجرت می کند که بیرون از سیتوپلاسم باقیمانده، قبل از پیدایش قطره کوچک سیتوپلاسمی متراکم می شود. این جایگیری مستقل از تشکیل آکروزوم اتفاق می افتد و سپس در ناحیه ی غلاف خلف آکروزومی جای می گیرد (۳۷).

بحث:

Wu و همکاران پیشنهاد کردند که نیمه ی N- ترمینال PAWP حفاظت‌شده و عملکردی می باشد؛ در حالی که نیمه ی C- ترمینال اختصاصیت اتصال PAWP را از موتیف YGXPPPGY قطعی می کند (۸). در موش ثابت شده است که اکثریت RNA اولیه ی زیگوت در پرونوکلئوس نر رونویسی می شود، اما دلیلی برای این سوگیری جنسی مشخص نشده است. یک توضیح احتمالی این است که فاکتورهای رونویسی ترجیحاً به کروماتین پدری به علت تغییرات هیستونی متفاوت آن ها متصل می شوند. در مطالعه ای که توسط Wu و همکاران انجام شد، به‌منظور اثبات نقش PAWP در تشکیل پرونوکلئوس ها، تزریق آنتی‌بادی نوترکیب ضد PAWP در طی تکنیک ICSI انجام گرفت و مهار تشکیل پرونوکلئوس نر و ماده مشاهده شد، همچنین آزمایشات وسترن بلات نشان داد که لیگاندهای PY از PAWP به‌طور اختصاصی با پروتئین های حاوی دومین WW1 تخمک میان کنش می دهد، آن ها فرض کردند که این میان کنش احتمالاً با یک پروتئین محتوی دومین WW1 تخمک می باشد که برای فعال‌سازی تخمک

www.SID.ir

Archive of SID

ضروری است. به‌منظور بررسی این فرضیه با کمک تکنیک ICSI، آن ها آنتی‌بادی نوترکیب ضد PAWP را با پپتید رقابتی PAWP-PY جایگزین کردند که به دنبال آن نیز عدم تشکیل پرونوکلئوس ها مشاهده شد. این امر حمایت‌کننده بر نقش لیگاند PY از PAWP در تشکیل پرونوکلئوس می باشد. به‌طوری‌که از میان کنش های دومین PY-WW1 قبلی، از آنالیز وسترن آن ها و از آزمایشات پارتنوژنیک آن ها پیشگویی شده بود. عملکرد موتیف PY و YGXPPXG در PAWP و شباهت توالی آن به WBP2 و همچنین توانایی آن در ازسرگیری میوز و تشکیل پرشونوکلئوس، دلالت بر نقش مهم PAWP در طی لقاح دارد (۸). ریز تزریق پروتئین نوترکیب PAWP در تخمک های متافاز ۲ زنوپوس و پستانداران یک نسبت بالای ازسرگیری میوز و تشکیل پرونوکلئوس را القا می‌کند. به‌علاوه، لقاح توسط اسپرم که از آنتی‌بادی ضد PAWP یا پپتیدهای رقابتی مشتق شده از توالی آن ها استفاده شده بود، مهار گردید. لذا PAWP به‌عنوان کاندید قوی فاکتور فعال‌سازی تخمک پیشنهاد شد. PAWP به‌عنوان یک پارالوگ ژن WBP2 و اینکه هردوی آن ها موتیف های PPXY را حمل می کنند، پیشنهاد شده که در فعالیت فاکتور فعال‌سازی تخمک درگیر باشد. Wu و همکاران نشان دادند که پپتید PPGY و آنتی‌بادی ضد PAWP تشکیل پرونوکلئوس را در خوک مهار می کند (۸). همچنین Aarabi و همکاران نشان دادند که یک پپتید سنتزی PPGY مشتق شده از PAWP یا آنتی‌بادی ضد PAWP، نوسانات کلسیم القا شده توسط اسپرم که برای لقاح تخمک های زنوپوس نیاز است، مهار می کند (۱۵). در مطالعه ی Aarabi و همکاران همچنین نشان داده شد که پپتید سنتزی PPGY نوسانات کلسیم القا شده توسط اسپرم را در موش و انسان مهار می کند (۱۶). Aarabi و همکاران گزارش کردند که تزریق پروتئین نوترکیب یا cRNA برای PAWP، نوسانات کلسیم یا رهاسازی کلسیم سیتوزولی را در تخمک های قورباغه، موش و انسان به دنبال دارد و سطح PAWP در اسپرماتوزوآ با نتایج لقاح در انسان یا با تلقیح مصنوعی در دام در ارتباط است (۱۶،۱۵). در صورتی که Nomikos و همکاران با مقایسه ی توانایی PAWP و PLCζ موش برای تولید نوسانات کلسیم در تخمک های موش، نشان دادند که ریز تزریق پروتئین PAWP نوترکیب یا cRNA ی PAWP به تخمک های موش هیچ افزایش قابل ملاحظه‌ای را در غلظت کلسیم درون سلول به دنبال ندارد. در صورتی که تخمک های تزریق شده با PLCζ تولید نوسانات کلسیم سیتوپلاسم را در پی داشتند (۴۶). همچنین پیشنهاد کردند که تزریق cRNA از PAWP با رنج وسیعی از غلظت ها (از ۰/۱pg تا ۱۰pg) در آزادسازی کلسیم درون تخمک های پستانداران هیچ تأثیری ندارد تنها تأثیری که PAWP داشت، در تعدادی از آزمایش ها، افزایش تعداد تخمک هایی بود که از اجسام قطبی ثانویه پس از تزریق PAWP تشکیل می شوند (۴۶). لذا نظرات مختلفی در راستای فعالیت و عملکرد PAWP وجود دارد.

ارتباط بین پروتئین PAWP و پارامترهای اسپرمی

Kennedy و همکاران، نمونه های اسپرم ۲۹۸ گاو نر در تکنیک تلقیح مصنوعی را برای بررسی سطح بیان PAWP مورد استفاده قرار دادند که بیانگر یک ارتباط مثبت معنی داری بین سطح PAWP اسپرم با میزان حاملگی و مورفولوژی طبیعی اسپرم گاو بود (۴۷). بعلاوه Aarabi و Kennedy در مطالعات خود ارتباطی بین مورفولوژی غیرطبیعی سر اسپرم با محتوای کم PAWP در هردوی انسان و دام گزارش کردند (۴۷،۳۰). در مطالعه‌ای که اخیراً کمالی و همکاران بر روی اسپرم افراد نابارور گلبوزواسپرمی، افرادی که دارای اسپرم های سرگرد و فاقد آکروزوم و یا آکروزوم جزئی در سر هستند، انجام داده‌اند. نشان داده شده که بیان PAWP در این افراد نسبت به افراد بارور در سطح RNA و پروتئین کاهش داشته است؛ لذا اسپرم ها با شکل غیرطبیعی سر با کاهش بیان پروتئین PAWP مواجه هستند (۴۸). همچنین در مطالعه ای دیگر توسط تولائی و همکاران، ارتباط بین فاکتور PAWP با پارامترهای اسپرمی مورد ارزیابی

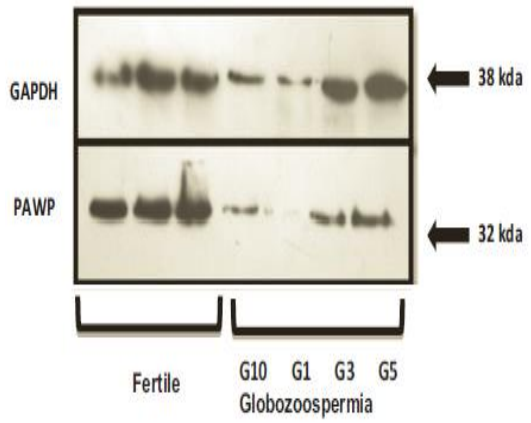
www.SID.ir

Archive of SID

قرار گرفت که نتایج آن ارتباط مثبت معنی‌داری بین درصد PAWP با غلظت اسپرم و درصد تحرک و ارتباط منفی معنی‌داری با مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم را نشان می دهد (۴۹).

ارتباط بین پروتئین PAWP و تکنیک های کمک باروری

در مطالعه اعرابی و همکاران انجام شد، یک ارتباط معنی‌دار آماری بین سطوح PAWP اسپرم و تکوین طبیعی جنین انسان پس از ICSI یافت شد. مردانی که سطوح پایین PAWP اسپرم را داشتند، نسبت بالای معنی داری از توقف تکوین جنین را در روزهای ۵-۳ بعد از ICSI نشان می دادند که این بیانگر اختلال در فرایندهای اولیه در طول فعال‌سازی تخمک مثل الگوی نوسانات کلسیم، تکوین اولیه ی جنین و لانه گزینی می باشد (۳۰،۵۰). در مطالعه ی Aarabi و همکاران هیچ ارتباطی بین سطح PAWP اسپرم و میزان حاملگی بالینی در زوج های نابارور مشاهده نشد، واضح است که رنج وسیع دیگر فاکتور ها ممکن است حاملگی کلینیکی را در زوج های نابارور تعیین کنند (۳۰). Aarabi و همکاران تأکید می کنند که سطح PAWP در اسپرم می تواند به‌عنوان یک بیومارکر ارزشمند برای پیشگویی لقاح ICSI و تکوین پیش از لانه گزینی در نظر گرفته شود (۳۰). Satouh و همکاران همچنین به‌منظور بررسی نقش PAWP در ایجاد نوسانات کلسیم و فعال‌سازی تخمک، موش نر PAWP-/- تولید کردند. سپس از طریق بررسی نتایج مربوط به IVF این موش ها و بررسی تعداد زاده ها و مقایسه‌ی آن با گروه کنترل، توانایی باروری موش نر PAWP-/- را مورد ارزیابی قرار دادند. پس از آن عملکرد دقیق PAWP در فعال‌سازی تخمک با جزئیات توسط تکنیک time lapse imaging نوسانات کلسیم و مشاهده ی سرعت رشد جنین بررسی شد و هیچ اختلاف معنی‌داری بین موش نر PAWP-/- و گروه کنترل مشاهده نشد (۳۷). همچنین، تولائی و همکاران نشان دادند که میزان بیان PAWP در سطح RNA در افراد نابارور با گلوبوزواسپرمی نسبت به افراد بارور کاهش معنی‌داری دارد و میزان بیان آن در سطح پروتئین نیز در افراد نابارور گلوبوزواسپرمی کمتر از افراد بارور می باشد (تصویر شماره ۶).



تصویر شماره ۶: وسترن بلات پروتئین های GAPDH و PAWP بین سه فرد بارور و چهار فرد گلوبوزواسپرمی (۵۱)

گزارش‌شده در افراد گلوبوزواسپرمی نتایج لقاح پس از ICSI نسبت به افراد بارور پایین تر می باشد؛ لذا در این مطالعه ICSI همراه با AOA انجام شده و نتایج حاصل از آن افزایش درصد لقاح (۵۶/۰۶٪) و افزایش درصد حاملگی (۴۱/۷٪) را در این افراد نشان می دهد (۵۱). بعلاوه، ارتباط بین بیان فاکتور PAWP با میزان لقاح و تکوین اولیه ی جنین مورد ارزیابی قرارگرفته و ارتباط مثبت معنی‌داری بین درصد PAWP با میزان لقاح ICSI گزارش شده است؛ در حالی که بین درصد PAWP با کیفیت جنین و میزان حاملگی هیچ ارتباطی مشاهده نکردند (۴۹). در شرایط آزمایشگاهی مشخص گردیده که بیان پروتئین PAWP در طی تکوین بیضه افزایش می‌یابد؛ لذا PAWP به‌عنوان یکی از مارکرهایی که می‌توان در مطالعات سلول‌های بنیادی جنینی به‌عنوان یک ژن خاص بیضه استفاده نمود، معرفی گردید (۵۲). اگرچه که بسیاری از محققان در رابطه با نقش PAWP در طی فرایند اسپرمیوژنز و تکوین اولیه جنینی بحث می‌کنند ولی نباید تمرکز اصلی فقط بر روی این پروتئین باشد. این امکان وجود دارد که پروتئین‌های دیگر مانند PLCζ که به‌عنوان کاندید اصلی دخیل در فعال شدن تخمک معرفی

www.SID.ir

Archive of SID

شده و یا فاکتورهای دیگر که هنوز عملکرد آن‌ها ناشناخته است، نیز دخیل باشد (۵۳). لذا مطالعات بیشتری در این زمینه باید انجام شود.

نتیجه‌گیری:

فعال سازی تخمک نیاز به اتصال اسپرم از ناحیه استوایی به غشاء تخمک دارد که منجر به رهایش فاکتورهای اسپرمی دخیل در فعال شدن تخمک به داخل تخمک می گردد و فعال شدن تخمک از طریق خروج از متافاز میوز II، تشکیل پرونوکلئوس ها، جلوگیری از پلی اسپرمی و تکوین اولیه جنین را به دنبال خواهد داشت. یکی از این فاکتورهای اسپرمی پروتئین PAWP است که علاوه بر اینکه در طی فرایند اسپرماتوژنز نقش درکشیده شدن اسپرماتید و تمایز اسپرم دارد، نقش بسزایی در فعال شدن تخمک و تشکیل پرونوکلئوس ها نیز دارد. عدم یا کاهش فعالیت آن می تواند عدم یا کاهش فعال شدن تخمک را سبب گردد. مطالعات متعددی اذعان داشته اند که در افراد نابارور، بیان PAWP اسپرم نسبت به افراد بارور هم در سطح RNA و هم در سطح پروتئین با کاهش معنی داری مواجه می باشد؛ به‌علاوه افراد با کاهش بیان PAWP با کاهش میزان لقاح، حاملگی و کیفیت جنین پس از تکنیک ICSI مواجه می باشند. لذا اهمیت بررسی این پروتئین در افراد نابارور جهت پیشگویی میزان موفقیت لقاح و حاملگی به دنبال ICSI واضح به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از پرسنل محترم پژوهشکده زیست فناوری و مسئولان گرامی پژوهشگاه رویان ابراز می‌دارند.

منابع:

1. Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. Semin Cell Dev Biol. 2016; 59: 10-26.
2. Gunes S, Al-Sadaan M, Agarwal A. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. Reprod Biomed Online. 2015; 31(3): 309-19.
3. Griswold MD. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. Physiol Rev. 2016; 96(1): 1-17.
4. Schlatt S, Ehmcke J. Regulation of spermatogenesis: an evolutionary biologist's perspective. Semin Cell Dev Biol. 2014; 29: 2-16.
5. Lie PP, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY. Cytoskeletal dynamics and spermatogenesis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2010; 365(1546): 1581-92.
6. Fawcett DW. W. Bloom and DW Fawcett: a textbook of histology. New York: Chapman and Hall; 1994.
7. Oko R, Sutovsky P. Biogenesis of sperm perinuclear theca and its role in sperm functional competence and fertilization. J Reprod Immunol. 2009; 83(1-2): 2-7.
8. Wu AT, Sutovsky P, Manandhar G, Xu W, Katayama M, Day BN, et al. PAWP, a sperm-specific WW domain-binding protein, promotes meiotic resumption and pronuclear development during fertilization. J Biol Chem. 2007; 282(16): 12164-75.
9. Oko RJ. Developmental expression and possible role of perinuclear theca proteins in mammalian spermatozoa. Reprod Fertil Dev. 1995; 7(4): 777-97.
10. Oko R, Maravei D. Protein composition of the perinuclear theca of bull spermatozoa. Biol Reprod. 1994; 50(5): 1000-14.
11. Tovich PR, Sutovsky P, Oko RJ. Novel aspect of perinuclear theca assembly revealed by immunolocalization of non-nuclear somatic histones during bovine spermiogenesis. Biol Reprod. 2004; 71(4): 1182-94.

www.SID.ir

Archive of SID

12. Wu AT, Sutovsky P, Xu W, van der Spoel AC, Platt FM, Oko R. The postacrosomal assembly of sperm head protein, PAWP, is independent of acrosome formation and dependent on microtubular manchette transport. Dev Biol. 2007; 312(2): 471-83.
13. Amdani SN, Yeste M, Jones C, Coward K. Sperm factors and oocyte activation: Current controversies and considerations. Biol Reprod. 2015; 93(2): 50.
14. Machaca K. Ca^{2+} signaling differentiation during oocyte maturation. J Cell Physiol. 2007; 213(2): 331-40.
15. Aarabi M, Qin Z, Xu W, Mewburn J, Oko R. Sperm-borne protein, PAWP, initiates zygotic development in Xenopus laevis by eliciting intracellular calcium release. Mol Reprod Dev. 2010; 77(3): 249-56.
16. Aarabi M, Balakier H, Bashar S, Moskovtsev SI, Sutovsky P, Librach CL, et al. Sperm-derived WW domain-binding protein, PAWP, elicits calcium oscillations and oocyte activation in humans and mice. FASEB J. 2014; 28(10): 4434-40.
17. Xu Z, Kopf GS, Schultz RM. Involvement of inositol 145-trisphosphate-mediated Ca^{2+} release in early and late events of mouse egg activation. Development. 1994; 120(7): 1851-9.
18. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Javdan Z, Tavalaee M. Artificial oocyte activation in severe teratozoospermia undergoing intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 2008; 90(6): 2231-7.
19. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Javdan Z, Tavalaee M. Artificial oocyte activation in severe teratozoospermia undergoing intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 2008; 90(6): 2231-7.
20. Whitaker M. Calcium at fertilization and in early development. Physiol Rev. 2006; 86(1): 25-88.
21. Gresset A, Sondek J, Harden TK. The phospholipase C isozymes and their regulation. Subcell Biochem. 2012; 58: 61-94.
22. Aarabi M, Yu Y, Xu W, Tse MY, Pang SC, Yi YJ, et al. The testicular and epididymal expression profile of PLCzeta in mouse and human does not support its role as a sperm-borne oocyte activating factor. PloS one. 2012; 7(3): e33496.
23. Parrington J, Lai FA, Swann K. A novel protein for Ca^{2+} signaling at fertilization. Curr Top Dev Biol. 1998; 39: 215-43.
24. Parrington J, Swann K, Shevchenko VI, Sesay AK, Lai FA. A soluble sperm protein that triggers calcium oscillations in mammalian oocytes. Nature. 1996; 379: 364-8.
25. Sette C, Bevilacqua A, Bianchini A, Mangia F, Geremia R, Rossi P. Parthenogenetic activation of mouse eggs by microinjection of a truncated c-kit tyrosine kinase present in spermatozoa. Development. 1997; 124(11): 2267-74.
26. Sutovsky P, Manandhar G, Wu A, Oko R. Interactions of sperm perinuclear theca with the oocyte: implications for oocyte activation, anti-polyspermy defense, and assisted reproduction. Microsc Res Tech. 2003; 61(4): 362-78.
27. Aghajanpour S, Ghaedi K, Salamian A, Deemeh MR, Tavalaee M, Moshtaghian J, et al. Quantitative expression of phospholipase C zeta, as an index to assess fertilization potential of a semen sample. Human Reprod. 2011; 26(11): 2950-6.
28. Saunders CM, Swann K, Lai FA. PLCzeta, a sperm-specific PLC and its potential role in fertilization. Biochem Soc Symp. 2007; 27(74): 23-36.
29. Janghorban-Laricheh E, Ghazavi-Khorasgani N, Tavalaee M, Zohrabi D, Abbasi H, Nasr-Esfahani MH. An association between sperm PLCzeta levels and varicocele? J Assist Reprod Genet. 2016; 33(12): 1649-55.
30. Aarabi M, Balakier H, Bashar S, Moskovtsev SI, Sutovsky P, Librach CL, et al. Sperm content of postacrosomal WW binding protein is related to fertilization outcomes in patients undergoing assisted reproductive technology. Fertil Steril. 2014; 102(2): 440-7.
31. Sutovsky P, Aarabi M, Miranda-Vizuete A, Oko R. Negative biomarker based male fertility evaluation: Sperm phenotypes associated with molecular-level anomalies. Asian J Androl. 2015; 17(4): 554-60.
32. Macias MJ, Wiesner S, Sudol M. WW and SH_3 domains, two different scaffolds to recognize proline-rich ligands. FEBS Lett. 2002; 513(1): 30-7.
33. Sudol M, Hunter T. New wrinkles for an old domain. Cell. 2000; 103(7): 1001-4.

www.SID.ir

Archive of SID

34. Yagi R, Chen LF, Shigesada K, Murakami Y, Ito Y. A WW domain-containing yes-associated protein (YAP) is a novel transcriptional co-activator. EMBO J. 1999; 18(9): 2551-62.
35. Dhananjayan SC, Ramamoorthy S, Khan OY, Ismail A, Sun J, Slingerland J, et al. WW domain binding protein-2, an E6-associated protein interacting protein, acts as a coactivator of estrogen and progesterone receptors. Mol Endocrinol. 2006; 20(10): 2343-54.
36. Kashir J, Nomikos M, Swann K, Lai FA. PLCζ or PAWP: Revisiting the putative mammalian sperm factor that triggers egg activation and embryogenesis. Mol Hum Reprod. 2015; 21(5): 383-8.
37. Satouh Y, Nozawa K, Ikawa M. Sperm postacrosomal WW domain-binding protein is not required for mouse egg. Biol Reprod. 2015; 93(4): 94.
38. Runft LL, Jaffe LA. Sperm extract injection into ascidian eggs signals Ca^{2+} release by the same pathway as fertilization. Development. 2000; 127(15): 3227-36.
39. Mehlmann LM, Jaffe LA. SH_2 domain-mediated activation of an SRC family kinase is not required to initiate Ca^{2+} release at fertilization in mouse eggs. Reproduction. 2005; 129(5): 557-64.
40. Chen HI, Sudol M. The WW domain of Yes-associated protein binds a proline-rich ligand that differs from the consensus established for Src homology 3-binding modules. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995; 92(17): 7819-23.
41. Browaeys-Poly E, Broutin I, Antoine AF, Marin M, Lescuyer A, Vilain JP, et al. A non-canonical Grb2-PLC-gamma1-Sos cascade triggered by lipovitellin 1, an apolipoprotein B homologue. Cell Signal. 2007; 19(12): 2540-8.
42. Reynolds CH, Garwood CJ, Wray S, Price C, Kellie S, Perera T, et al. Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase Cgamma1, Grb2, and Src family kinases. J Biol Chem. 2008; 283(26): 18177-86.
43. Kimura Y, Yanagimachi R, Kuretake S, Bortkiewicz H, Perry AC, Yanagimachi H. Analysis of mouse oocyte activation suggests the involvement of sperm perinuclear material. Biol Reprod. 1998; 58(6): 1407-15.
44. Perry AC, Wakayama T, Yanagimachi R. A novel trans-complementation assay suggests full mammalian oocyte activation is coordinately initiated by multiple, submembrane sperm components. Biol Reprod. 1999; 60(3): 747-55.
45. Perry AC, Wakayama T, Cooke IM, Yanagimachi R. Mammalian oocyte activation by the synergistic action of discrete sperm head components: Induction of calcium transients and involvement of proteolysis. Dev Biol. 2000; 217(2): 386-93.
46. Nomikos M, Sanders JR, Theodoridou M, Kashir J, Matthews E, Nounesis G, et al. Sperm-specific post-acrosomal WW-domain binding protein (PAWP) does not cause Ca^{2+} release in mouse oocytes. Mol Hum Reprod. 2014; 20(10): 938-47.
47. Kennedy CE, Krieger KB, Sutovsky M, Xu W, Vargovic P, Didion BA, et al. Protein expression pattern of PAWP in bull spermatozoa is associated with sperm quality and fertility following artificial insemination. Mol Reprod Dev. 2014; 81(5): 436-49.
48. Kamali-Dolat Abadi M, Tavalaee M, Shahverdi A, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of PLCζ and PAWP expression in globozoospermic individuals. Cell J. 2016; 18(3): 438-45.
49. Tavalaee M, Kiani-Esfahani A, Nasr-Esfahani MH. Relationship between potential sperm factors involved in oocyte activation and sperm DNA fragmentation with intra-cytoplasmic sperm injection clinical outcomes. Cell J. 2017; 18(4): 588-96.
50. Ozil JP, Markoulaki S, Toth S, Matson S, Banrezes B, Knott JG, et al. Huneau D, Ducibella T. Egg activation events are regulated by the duration of a sustained Ca^{2+} cyt signal in the mouse. Dev Biol. 2005; 282(1): 39-54.
51. Tavalaee M, Nasr-Esfahani MH. Expression profile of PLCzeta, PAWP, and TR-KIT in association with fertilization potential, embryo development, and pregnancy outcomes in globozoospermic candidates for intra-cytoplasmic sperm injection and artificial oocyte activation. Andrology. 2016; 4(5): 850-6.
52. Nourashrafeddin S, Aarabi M, Miryounesi M, Ebrahimzadeh-Vesal R, Zarghami N, Modarressi MH, et al. Expression analysis of PAWP during mouse embryonic stem cell-based spermatogenesis in vitro. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2014; 50(5): 475-81.
53. Aarabi M, Sutovsky P, Oko R. Re: Is PAWP the 'real' sperm factor? Asian J Androl. 2015; 17(3): 446-9.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2018; 20(3): 82-95.

Original article

Role of sperm PAWP in spermatogenesis and early embryonic development

Tavalaee M[1], Ghazavi-Khorasgani N[1], Janghorban-Laricheh E[1], Nasr-Esfahani MH[1,2*]
[1]Reproductive Biotechnology Dept., Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, I.R. Iran; [2]Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 3/Jan/2017 Accepted: 17/May/2017

Background and aims: In the present time, papers studies support that cytosolic calcium oscillations in oocyte are mediated by sperm-borne oocyte activating factor(s), released into the oocyte following fusion of sperm (equatorial segment) with oolemma. Phospholipase C zeta (PLCζ) is considered to be as the most important factor involved in oocyte activation. However, recent studies suggest that PAWP (postacrosomal WW domain-binding protein) might be related to this event and also plays an important role in spermatogenesis process. In this review, the role of PAWP during development and its relation to male infertility is discussed.
Methods: An electronic search was performed to collect the data using the PubMed/ MEDLINE databases until March 2017.
Results: PAWP is expressed in elongating spermatids and located in the perinuclear theca region of the sperm head. Expression of PAWP is associated with semen quality and fertilization in infertile men.
Conclusion: Assessment of sperm PAWP as an index to evaluate fertilization potential of semen may open a new window in andrology laboratory.

Keywords: PAWP, Spermatogenesis, Fertilization, Embryonic development, Sperm parameters, ICSI, Infertility.

Cite this article as: Tavalaee M, Ghazavi-Khorasgani N, Janghorban-Laricheh E, Nasr-Esfahani MH. Role of sperm PAWP in spermatogenesis and early embryonic development. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(3): 82-95.

[*]**Corresponding author:**
Reproductive Biotechnology Dept., Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00983195015682, E-mail: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

www.SID.ir