Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۲۰، شماره ۴/ مهر و آبان ۱۳۹۷/ ۱۱۸-۱۰۰

مقاله مروری

شناخت بیولوژی مرگ سلولی اسپرم

مرضیه تولایی [۱]، شقایق فروزان بروجنی [۱]، محمدحسین نصر اصفهانی [۱و۲*]

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

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۰

چکیده:

زمینه و هدف: **مرگ سلولی یکی از مباحثی است که در سال‌های اخیر توجه فراوانی را به خود جلب کرده است. در شرایط طبیعی سلول‌ها با استفاده از مسیرهای مختلف مانند آپوپتوز، اتوفاژی، پاسخ شبکه آندوپلاسمی و غیره این تعادل را حفظ می‌کنند. کوچک ترین نقص در حفظ این تعادل می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلف ازجمله ناباروری در مردان گردد. از آنجایی که علت بسیاری از موارد ناباروری در مردان نامشخص است، دانشمندان سعی دارند تا با فهم هرچه بهتر مکانیسم‌های سلولی و مولکولی درگیر در تولید و مرگ سلول‌های جنسی نر، به رفع این مشکل کمک کنند.**

روش بررسی: **برای این مقاله مروری ما از اطلاعات و داده‌های مرتبط و حاصل از جستجوی پایگاه داده PubMed و موتور جستجوگر Google Scholar، بین سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۶ استفاده کردیم.**

یافته‌ها: **به نظر می‌رسد که پدیده‌ی مرگ سلول از رخدادهای دائمی در حال اتفاق در بیضه و مراحل اول تکوین باشد. اخیراً مشخص شده است که سه مسیر مرگ سلولی، آپوپتوز، اتوفاژی و فروپتوز در پدیده‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک نقش دارند.**

نتیجه‌گیری: **بررسی و توجه بیشتر به مکانیسم‌های مختلف مرگ سلولی در بیضه و اسپرم می‌تواند باعث پیشرفت چشمگیری در زمینه علل شناسی ناباروری مردان گردد.**

واژه‌های کلیدی: **آپوپتوز، اتوفاژی، استرس اکسیداتیو، آسیب DNA، ناباروری مردان.**

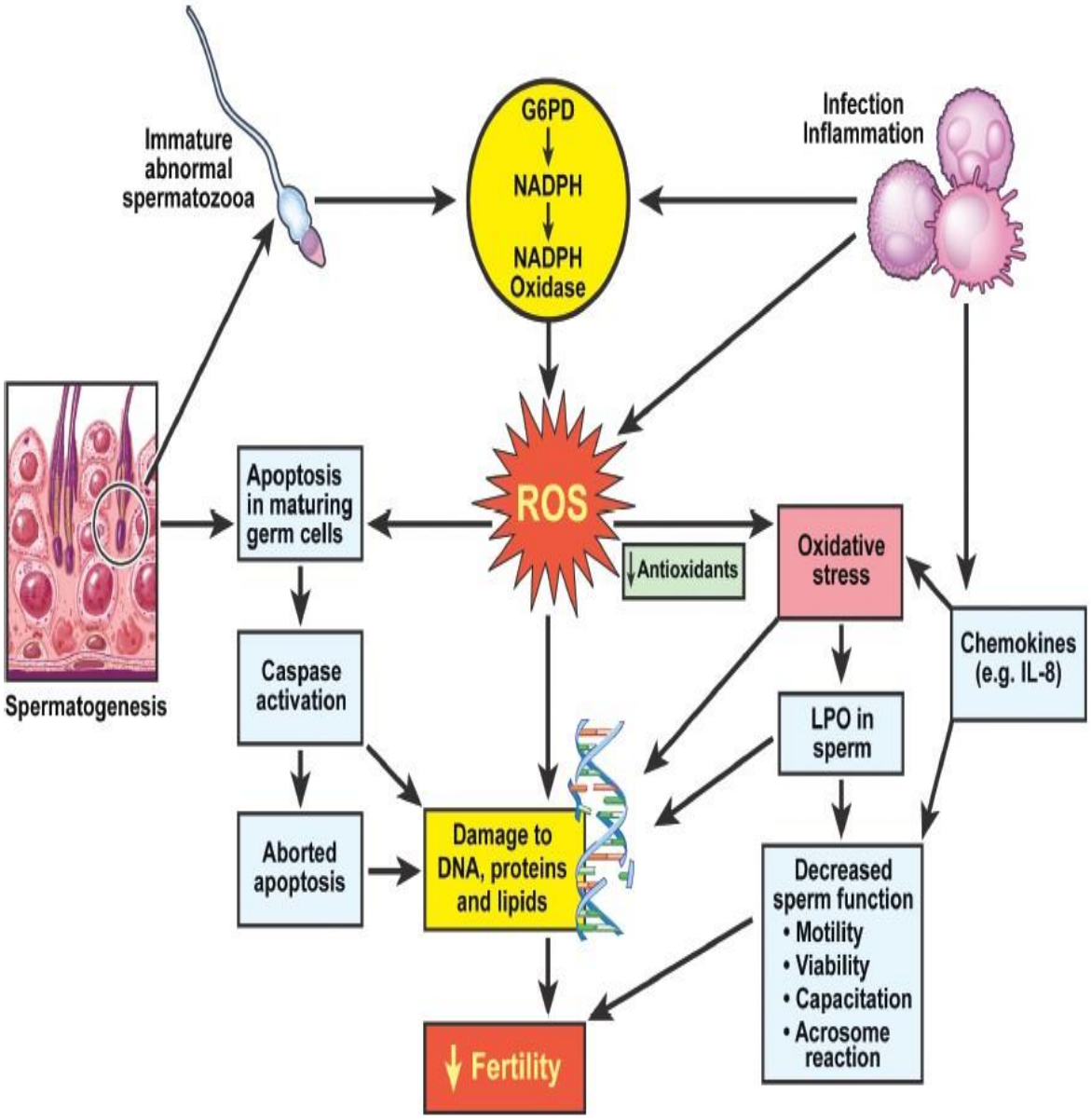
مقدمه:

مدیریت ناباروری در مردان به‌طور عمده به درک ما از جنبه‌های سلولی و مولکولی (Spermatogenesis) بستگی دارد؛ بنابراین، علاوه بر آنالیز استاندارد مایع منی، بررسی مارکرهای تشخیصی برای ارزیابی پتانسیل باروری انزال لازم است. کروماتین اسپرم تشکیل‌دهنده حدود نیمی از ساختار DNA جنین آینده می‌باشد. در میان انواع ناهنجاری‌های اسپرمی، ساختار کروماتین غیرطبیعی، تأثیر منفی زیادی بر لقاح و تکوین جنینی و همچنین بر سلامت جنین دارد (۳-۱). عوامل آسیب‌رسان DNA ممکن است درون‌زاد یا برون‌زاد باشند. نقص در بسته‌بندی کروماتین، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز (Apoptosis) از علل اصلی پیشنهاد شده برای آسیب‌های درون‌زاد به DNA هستند (تصویر شماره ۱).

*نویسنده مسئول: اصفهان- گروه زیست‌فناوری تولیدمثل- مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل- پژوهشکده زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی- پژوهشگاه رویان- تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۲، E-mail: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر شماره ۱: افزایش سطح تولید ROS ها در اسپرم‌های غیرطبیعی و یا نابالغ و عفونت

این افزایش در صورتی که به همراه کاهش آنتی اکسیدان‌ها باشد، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود که خود باعث پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد. پراکسیداسیون لیپیدها علاوه بر اینکه به DNA پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها آسیب می‌رساند، باعث کاهش فعالیت‌های عملکردی اسپرم از قبیل تحرک، حیات، ظرفیت یابی و واکنش آکروزومی می‌شود. از سوی دیگر آپوپتوز به‌صورت مستقل یا وابسته به مسیر استرس اکسیداتیو می‌توانند با فعال شدن کاسپازها، منجر به مرگ سلول شوند. درنهایت آسیب‌های وارده به ماکرومولکول‌ها و کاهش فعالیت‌های عملکردی اسپرم، کاهش قدرت باروری در مردان را به همراه دارد (٤).

آپوپتوز سلول‌های زایای بیضه به طور معمول و به طور مداوم در طول زندگی در جهت از بین بردن سلول‌های جنسی معیوب از خزانه ژنی رخ می‌دهد. با این حال، در روند اسپرماتوژنز غیرطبیعی، سلول‌های جنسی ممکن است از آپوپتوز فرار و به انزال راه پیدا کنند. این فرایند که به نام "فرار از آپوپتوز" (Abortive apoptosis) شناخته می‌شود، مسئول آسیب درون‌زاد به DNA به شمار می‌رود و گزارش شده است که در بیماران

www.SID.ir

Archive of SID

ناباروری بیشتر است. همچنین در صورت به وجود آمدن استرس اکسیداتیو درون‌زاد، رادیکال‌های آزاد به DNA حمله می‌کنند و باعث شکست در DNA می‌شوند. نقص در بسته‌بندی کروماتین نیز DNA را نسبت به آسیب مستعد می‌کند (۵).

آسیب DNA با منشأ خارجی با قرار گرفتن اسپرم در یک محیط نامطلوب مانند قرار گرفتن در معرض رادیکال‌های فعال اکسیژن محیطی القا می‌شود (۶). از آنجا که عملکرد و تکثیر سلول‌ها وابسته به سلامت DNA است، آسیب DNA ممکن است به مرگ سلولی یا القاء جهش منجر شود. آسیب DNA در اسپرم ممکن است جهش را به نسل بعدی منتقل کند و یا منجر به ناباروری در مردان شود. با در نظر داشتن این مسئله که در روش‌های کمک باروری موانع طبیعی سر راه لقاح کنار گذاشته می‌شوند لذا پیامدهای ناشی از اسپرم با آسیب DNA را بر روی لقاح و تکوین اولیه جنین در نظر گرفت. امروزه بررسی DNA اسپرم تبدیل به بخش مهمی از ارزیابی‌ها برای زوج‌هایی که به دنبال درمان با استفاده از روش‌های کمک باروری هستند، شده است (۳).

در این مطالعه مروری سعی بر آن است که به مهم‌ترین پیامد آسیب به DNA یعنی مرگ سلولی که انواع مختلفی دارد و از طرق مختلف می‌تواند منجر به آسیب اسپرم گردد، پرداخته شود.

اسپرماتوژنز فرایند تکوین اسپرم در لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه است. سلول‌های اسپرم از سلول‌های زایای اولیه حاصل می‌شوند و پس از یکسری از تقسیمات میتوزی و به دنبال آن میوز I و II، در حین بلوغ به سمت لومن لوله‌های اسپرم‌ساز حرکت می‌کنند (۷). اسپرماتوژنز به سه مرحله تقسیم می‌شود: فاز تکثیر یا اسپرماتوسیتوژنز (Spermatocytogenesis)، فاز میوز و فاز اسپرمیوژنز (Spermiogenesis) (۸).

در مرحله اول، در اسپرماتوگونی‌ها (Spermatogonia) چرخه‌های متوالی تکثیر DNA و میتوز انجام می‌شود. در ابتدا، سلول‌های اسپرماتوگونی وارد اینترفاز می‌گردند و در این مرحله رشد سلولی و سنتز DNA رخ می‌دهد. فاز S مهم‌ترین گام در این فرایند برای همانندسازی مواد ژنتیکی پیش از ورود آن به مرحله اسپرماتوگونیایی چرخه سلولی است. سلول‌های زایا باید در برابر میزان بالای جهش، به‌منظور حفظ بقای گونه طی همانندسازی DNA در فاز S چرخه سلولی، محافظت شوند (۸). لذا اشتباه در جفت شدن نوکلئوتیدهای رشته DNA توسط فعالیت غلط‌گیری اگزونوکلئازی DNA پلیمراز و مکانیسم ترمیم جور شدن نادرست (Mismatch repair) اصلاح می‌شود (۷).

سلول اسپرماتوگونی دختر نوع A در غشا پایه به‌عنوان یک سلول پیش ساز باقی می‌ماند. این نوع از سلول‌ها خاصیت خود نوزایی (Self-renewal) خود را حفظ می‌کنند و با هر تقسیم یک سلول مشابه خود و یک اسپرماتوگونی نوع B می‌سازند. اسپرماتوگونی B به اسپرماتوسیت های (Spermatocytes) پره‌لپتوتن (Pre-leptotene) تمایز پیدا می‌کند که آخرین همانندسازی DNA هسته‌ای را انجام می‌دهد و سپس با عبور از سد خونی- بیضه‌ای به سمت ناحیه نزدیک به حفره درونی حرکت می‌کنند. این سلول‌ها به‌منظور ادامه چرخه سلولی تا زمانی که تبدیل به اسپرماتوسیت اولیه شوند و میوز را آغاز کنند، وارد قسمت راسی (Apical) می‌شوند.

در مرحله دوم اسپرماتوژنز، ژنوم دیپلوئید اسپرماتوسیت به اسپرماتید هاپلوئید کاهش می‌یابد. درواقع، اسپرماتوگونی B دو تقسیم میوزی، میوز I و میوز II، با تنها یک دور سنتز DNA انجام می‌دهد که به تولید اسپرماتیدهای هاپلوئیدی می‌انجامد که در مرحله اسپرماتوسیت ازلحاظ ژنتیکی از یکدیگر متفاوت هستند (۹).

روند نهایی اسپرماتوژنز، تمایز اسپرماتید به اسپرم، با نام "اسپرمیوژنز" درنهایت منجر به تولید یک اسپرم بسیار تمایز یافته می‌گردد. مشخصه اسپرمیوژنز از دست رفتن ۹۰٪-۸۰٪ حجم سلولی اسپرماتیدها است (۹،۷). فاز نهایی اسپرماتوژنز، شامل یکسری تغییر و تحول مورفولوژیکی پیچیده در سلول زایا هاپلوئید است که

www.SID.ir

Archive of SID

منجر به رهایش اسپرم در لومن لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود. لذا اسپرمیوژنز به ۴ مرحله تقسیم می‌گردد: فاز گلژی (Golgi phase)، فاز کلاهک (Cap phase)، فاز آکروزومی (Acrosomal phase) و بلوغ (Maturation). در فاز گلژی، DNA اسپرم دستخوش بسته‌بندی با پروتئین هسته‌ای خاص به نام پروتئین‌های گذار (Transition proteins)، خواهد شد که بعداً با پروتامین ها (Protamines) جایگزین می‌شوند. به دنبال این فرایند طویل شدن اسپرماتید و تشکیل کلاهک آکروزومی در فاز کلاهک صورت می‌گیرد.

در مرحله بعدی گسترش کیسه و گرانول آکروزومی اتفاق می‌افتد و نیمه قدامی هسته ی فشرده شده را در برمی‌گیرد که از آن پس به نام آکروزوم شناخته خواهد شد. همچنین طویل شدن یکی از سانتریول توسط ساختار مانشت (Manchette) به‌منظور تمایز به تاژک رخ می‌دهد. آخرین مرحله فاگوسیتوز (Phagocytosis) اجسام باقیمانده توسط سلول‌های سرتولی (Sertoli cells) است (۹،۷). مطالعات متعددی اذعان داشته‌اند که نقص در جایگزینی هیستون- پروتامین و همچنین نقص در بیوژنز آکروزوم می‌تواند با ناباروری مرتبط باشد. به گونه‌ای که کمبود پروتامین در اسپرم با میزان لقاح و تراکم زودرس کروماتین اسپرم (Sperm premature chromosomal condensation) ارتباط دارد (۱۱،۱۰) و نقص در بیوژنز آکروزوم می‌تواند منجر به سندرومی به نام گلوبوزواسپرمی (Globozoospermia) شود که با ناباروری در مردان مرتبط است (۱۳،۱۲).

اسپرماتوژنز یک فرایند بسیار سازمان یافته و منظم است و هرگونه اختلال در آن باعث کم شدن قدرت باروری و در نتیجه ناباروری در مردان می‌شود. مطالعات بسیاری رابطه بین نقص در اسپرماتوژنز و اشکال مختلف ناباروری از قبیل الیگوزواسپرمی (Oligozoospermia) (تعداد کم اسپرم)، آزواسپرمی (Azoospermia) (عدم وجود اسپرم در مایع منی)، آستنوزواسپرمی (Asthenozoospermia) (کاهش تحرک اسپرم)، واریکوسل (Varicocele) و غیره را نشان داده‌اند (۱۸-۱۴).

روش بررسی:

به‌منظور دستیابی به مقالات مرتبط به موضوع مقاله مروری حاضر، از پایگاه داده PubMed و همچنین موتور جستجوگر Google Scholar استفاده شد. جستجو با استفاده از کلید واژه‌های اسپرم، مرگ سلولی، آپوپتوز، اتوفاژی، استرس اکسیداتیو، کمبود پروتامین، آسیب DNA و اسپرماتوژنز صورت گرفت. بازه زمانی مقالات استخراج‌شده و مورد استفاده بین سال‌های ۱۹۹۸ الی ۲۰۱۶ بود.

یافته‌ها:

همانگونه که در بالا اشاره شد، با توجه به اینکه هدف اصلی این مقاله مروری در رابطه با مرگ سلولی در اسپرم می‌باشد، در ادامه به دو عامل اصلی استرس اکسیداتیو و کمبود پروتامین که منجر به فعال شدن مسیرهای مرگ سلولی می‌شوند، می‌پردازیم و سپس در ادامه با جزئیات بیشتر به مرگ سلولی و اهمیت آن در ناباروری مردان خواهیم پرداخت. گونه‌های فعال اکسیژن Reactive oxygen species (ROS) مولکول‌های بسیار واکنش‌پذیر حاوی اکسیژن هستند و از میان آن‌ها می‌توان به پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($HO^{\bullet}$)، آنیون سوپر اکسید (O_2^-)، اکسید نیتریک (NO) و هیپوکلرواسید (HOCl) اشاره نمود. سطح فیزیولوژیک ROS برای ظرفیت‌یابی اسپرم و لقاح موفق ضروری است اما تولید بیش از اندازه آن باعث به هم خوردن تعادل میان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی/ ROS و در نتیجه ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۹).

تولید ROS می‌تواند منابع برون‌زاد و یا درون‌زاد داشته باشد. از منابع خارجی می‌توان به قرار گرفتن در معرض تابش (اشعه ایکس، نور ماوراء بنفش)، مصرف سیگار، علف‌کش‌ها، سوء مصرف الکل، استرس مزمن،

www.SID.ir

Archive of SID

داروها (استامینوفن) و آلودگی هوا اشاره کرد. تنفس میتوکندریایی و سیستم‌های آنزیمی مانند گزانتین اکسیداز و NADPH اکسیداز مثال‌هایی از منابع درون‌زاد هستند (۱۸). گزارش‌های اخیر شواهدی از حضور بالای ROS در مایع منی مردان نابارور ارائه کرده‌اند (۲۱،۲۰). استرس اکسیداتیو بر مکانیسم‌های مختلف تأثیر منفی دارد. ROS غشاهای سلولی را مورد هدف قرار می‌دهد و افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده غشا را موجب می‌شود. کاهش سیالیت غشا حاصله از این اتفاق، اثر مضری بر روی ساختار سر و غشاء قسمت میانی اسپرم دارد و درنهایت منجر به کاهش تحرک و پتانسیل لقاح اسپرم می‌شود. آسیب به پروتئین‌های آکسونمی باعث تخلیه سریع آدنوزین تری فسفات و کاهش فسفوریلاسیون این پروتئین‌ها می‌شود که می‌تواند یکی دیگر از علت‌های اختلال در تحرک اسپرم باشد (۱۹).

DNA هسته‌ای و میتوکندریایی اسپرم از دیگر محل‌های مهم عمل ROS است که آسیب می‌تواند هم در یک باز نوکلئوتیدی و هم در اسکلت قند- فسفات DNA رخ دهد (۶). میزان بیش از حد ROS، مکانیسم‌ها و عملکرد آنزیم‌های حفاظتی اسپرم و تخمک را نیز (که DNA آسیب‌دیده را تعمیر می‌کنند)، مختل می‌کند و همچنین میزان بیش از حد ROS می‌تواند منجر به القا آپوپتوز در اسپرم بالغ شود (۱۹).

بسته‌بندی کروماتین اسپرم یک فرایند حیاتی مورد نیاز به‌منظور جای دادن مقدار زیادی DNA در یک سلول کوچک اسپرم است (۲۲). لقاح نیازمند رویدادهای فیزیولوژیکی بسیار، ازجمله حرکت اسپرم در طول دستگاه تناسلی ماده، اتصال آن به لایه زونا پلوسیدا (Zona pellucida) و نفوذ به تخمک است. برای انجام تمام این مراحل، لازم است تا ۹۵٪-۹۰٪ هیستون‌ها با پروتامین‌ها جایگزین شوند. پروتامین‌ها پروتئین‌های کوچک هسته‌ای و غنی از آرژنین هستند که در طول مراحل پیشرفته اسپرماتوژنز سنتز می‌شوند. پروتامینه شدن کروماتین اسپرم باعث تسهیل تراکم هسته می‌شود که این امر برای تحرک اسپرم و همچنین محافظت ژنوم اسپرم در برابر اکسیداسیون و مولکول‌های مضر در دستگاه تناسلی ماده مورد نیاز است (۲۳).

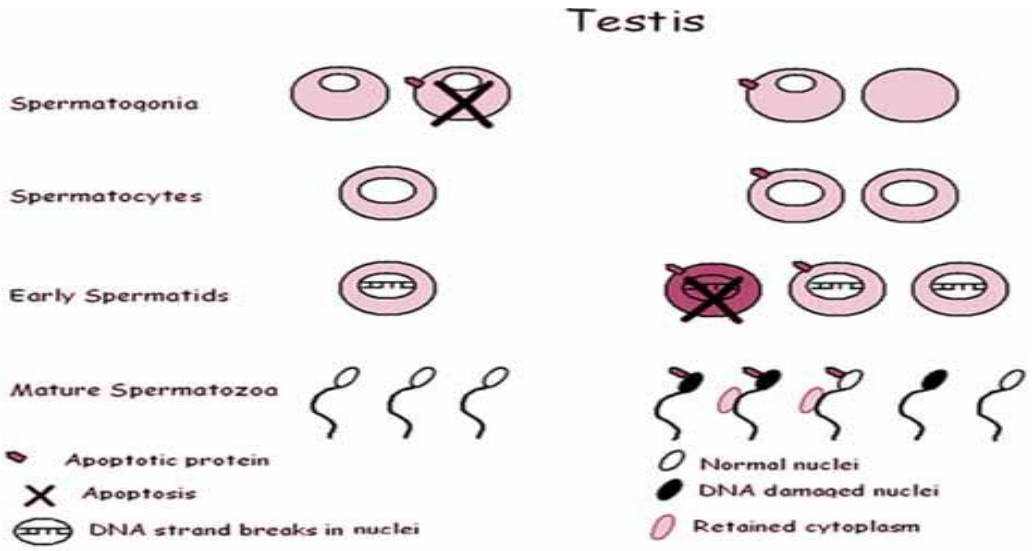
اسپرم انسان دو نوع پروتامین بیان می‌کند: پروتامین ۱ (P_1) و پروتئین‌های خانواده پروتامین ۲ (P_2). نسبت P_1 و P_2 به طور معمول حدود ۰/۸ تا ۱/۲ است. تغییر نسبت P1: P2 با مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم و کاهش تعداد تحرک اسپرم و مرتبط دانسته شده است (۲۵،۲۴). پروتامینه شدن غیرطبیعی ممکن است منجر به تراکم غیرطبیعی هسته اسپرم شود و در نتیجه DNA پدری را در معرض آسیب قرار دهد که این امر می‌تواند عواقب مضری بر رشد و تکوین جنین داشته باشد. شواهد روزافزون نشان می‌دهند که اختلال در محتوای پروتامین ممکن است انتقال سیگنال‌های اپی‌ژنتیک از طریق DNA پدری را تحت تأثیر قرار دهد. گزارش شده است که نسبت پایین P1: P2 (کمتر از ۰/۸) با افزایش سطح قطعه قطعه شدن DNA (DNA fragmentation) در ارتباط است و تأثیر منفی شدیدی بر کیفیت اسپرم اعمال می‌کند (۲۵). وجود نقص در پروتامینه شدن، می‌تواند نشانگر وجود نقص کلی در ذخیره mRNA ای و ترجمه باشد که این نقص بر سایر رونوشت‌ها نیز اثرگذار است. همچنین پروتامین ممکن است به‌عنوان یک نقطه بازرسی در روند اسپرماتوژنز عمل کند و محتوای نامناسب آن منجر به فرایندهای آپوپتوزی شود (۲۶).

مرگ سلولی

با تکوین بیضه، سلول‌های زایای ناکارآمد باید به طور موثر حذف گردند تا این اطمینان حاصل شود که اختلالات ژنتیکی به فرزندان منتقل نمی‌شود (۵). از سوی دیگر، این روند در حفظ هموستاز بافت انواع مختلفی از سلول‌ها نقش دارد. یک جمعیت سلولی که به‌خوبی سازمان یافته است، برای اسپرماتوژنز موفق و باروری مردان بسیار ضروری است. این واقعیت که در بیضه تا ۷۵٪ از سلول‌های زایا از مراحل مختلف می‌میرند، باعث شده است تا توجه محققان به سازوکارهای مرگ سلول جلب گردد (۲۷) (تصویر شماره ۲).

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر شماره ۲: شماتیکی از فرایند "فرار از آپوپتوز" در اسپرم

در طی فرایند اسپرماتوژنز، حدود ۷۵-۲۵٪ از سلول‌های زایا دچار مرگ آپوپتوزی می‌شوند. این امر تضمین‌گر حذف سلول‌های ناکارآمد و عدم راهیابی آن‌ها به مایع منی است (سمت چپ). در شرایط پاتولوژیک، این اتفاق رخ نمی‌دهد و سلول‌های زایایی که مارکرهای آپوپتوز را در سطح خود نمایش می‌دهند، با فرار از آپوپتوز، وارد مسیر تمایزی می‌شوند و منجر به تولید اسپرم‌هایی با آسیب DNA و زوائد سیتوپلاسمی می‌گردند. لذا با ورود آن‌ها به مایع منی می‌توان مارکرهای آپوپتوز را در سطح این اسپرم‌ها شناسایی کرد (سمت راست) (۲۸).

تولید اسپرم متکی به تکثیر، تمایز و بقای هماهنگ هر نوع سلول زایای در حال بلوغ، در روند اسپرماتوژنز پستانداران است (۲۹). آپوپتوز یک انتخاب مناسب برای کنترل تعداد سلول‌های زایا و از بین بردن سلول‌های زایا معیوب در اسپرماتوژنز و تکوین بیضه‌ای اسپرم است (۳۰). به طور کلی این باور وجود دارد که نسبت پروتئین‌های آپوپتوزی به پروتئین‌های ضدآپوپتوزی خانواده Bcl-2 تعیین‌کننده مهمی از سرنوشت سلول است، به این ترتیب که افزایش Bcl-2 به بقای سلول، اما افزایش Bax منجر به مرگ سلول می‌شود (۳۱).

دو مسیر عمده، مسیر میتوکندری و مسیر گیرنده مرگ سلول، در روند آپوپتوز در پستانداران نقش دارند. مسیر میتوکندریایی آپوپتوز شامل بسیاری از اعضای گروه پروتئین‌های Bcl-2 است. مسیر گیرنده مرگ سلول شامل اعضای ابر خانواده گیرنده فاکتور نکروز تومور (Tumor necrosis factor receptor) می‌شود. بعلاوه یک مسیر دیگر ناشی از پاسخ پروتئین تانخورده Unfolded protein response (UPR) در پاسخ به استرس شبکه آندوپلاسمی در حذف سلول زایا حیاتی است (۳۲). آپوپتوز توسط سیگنال‌های آمده از سلول‌های سرتولی که در ارتباط تنگاتنگ با سلول‌های زایا هستند و همچنین سیگنال‌هایی که منشأ خارج از بیضه‌ای دارند، فعال می‌گردد (۲۷). اینکه چه مسیر آپوپتوزی در سلول‌های زایا و اسپرم بالغ شروع گردد، بستگی به نوع محرک دریافت شده توسط آن‌ها دارد. در مقابل، مکانیسم مسیرهای بقا به‌طور کامل شناخته نشده است. تا آنجا که می‌دانیم، در سلول‌های زایا آپوپتوز یا توسط هورمون‌ها و کنترل بیان ژن تنظیم و یا در پاسخ به شرایط خاص فیزیولوژیکی، مانند، تابش، سم، استرس حرارتی،

www.SID.ir

Archive of SID

داروهای شیمی‌درمانی، عوامل مختلف مرگ و لیگاندهایشان و یا آسیب سلول القا می‌شود (۲۷).

مشخص شده است که ترکیبات مختلف و فاکتورهای رشد، مانند لیگاند Kit ligand (KL) kit که به‌عنوان Stem cell factor (SCF) هم شناخته می‌شود، Basic fibroblast growth factor (bFGF)، فاکتور مهارکننده لوسمی، TGF-βs، فورسکولین (Forskolin) و رتینوئیک اسید Retinoic acid (RA) به‌عنوان عوامل بقا در روند تکثیر و تمایز سلول‌های زایا عمل می‌کنند (۳۶-۳۳).

نقش هورمون‌ها در تنظیم آپوپتوز و بقا سلول‌های زایا در روند اسپرماتوژنز به خوبی نشان داده شده است. هرچند مکانیسم دقیق این تنظیم به‌وضوح روشن نیست ولی بسیاری از هورمون‌ها، ازجمله، FSH، LH، E2، T، MIS، (به‌خصوص گنادوتروپین‌های هیپوفیز) در روند آپوپتوز و بقا سلول‌های زایا حیاتی هستند (۳۷).

یک ارتباط نزدیکی بین استرس اکسیداتیو با قطعه قطعه شدن DNA اسپرم و اختلال در اسپرمیوژنز وجود دارد. عاملان متداول استرس اکسیداتیو شامل محرک‌های مختلف فیزیولوژیکی و زیست محیطی از قبیل تغییرات هورمونی، سموم، اشعه‌های یونیزان، سن، تغییرات دما، سیگار کشیدن، پیچش بیضه و غیره، می‌باشد که منجر به از دست دادن سلول‌های زایا و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (۳۸،۲۷). قرار گرفتن بیش از حد در معرض ROS ممکن است عامل اصلی ایجاد استرس اکسیداتیو در اسپرم باشد. اسپرم به علت حضور اسیدهای چرب اشباع نشده فراوان و کاهش دفاع آنتی اکسیدانی نسبت به سایر سلول‌ها آسیب‌پذیری بیشتری نسبت به استرس اکسیداتیو دارد. دو عامل اصلی در افزایش استرس اکسیداتیو (Oxidative stress) در اسپرم، دخیل هستند؛ یکی مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم (حضور زائده‌های سیتوپلاسمی) و دیگری لکوسیت‌های موجود در پلاسمای مایع منی (۳۹).

میتوکندری به‌عنوان تولیدکننده ATP در فعالیت‌های مختلف مانند ظرفیت‌یابی اسپرم، تحرک و واکنش آکروزومی درگیر است و با تنظیم استرس اکسیداتیو، حفظ هموستاز کلسیم و آزادسازی سیتوکروم C به سیتوزول و بیوسنتز هورمون‌های مختلف به‌عنوان یکی از اجزای کلیدی تنظیمی ماشین آپوپتوز شناخته می‌شود (۲۷). میتوکندری نه‌تنها مسئول حذف طبیعی و فیزیولوژیک سلول‌های زایای ناکارآمد است، بلکه به مرگ سلول ناشی از عوامل خارجی نیز کمک می‌کند (۴۰). به‌عنوان عامل موثر در آپوپتوز، ROS می‌تواند از طریق پراکسیداسیون به غشاء پلاسمایی اسپرم آسیب رساند و باعث آسیب به DNA با اکسید کردن بازهای DNA به‌خصوص دئوکسی گوانوزین شود (۴۱).

هایپرترمی (Hyperthermia) برای اسپرماتوژنز زیان‌آور است، تولید اسپرم با کیفیت بالا در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد کمتر از دمای مرکزی بدن انجام می‌شود. عواملی که به استرس گرمایی در بیضه می‌انجامند را می‌توان به عوامل خارجی و عوامل داخلی تقسیم کرد. لباس تنگ، حمام گرم، سونا، استفاده از لپ‌تاپ، چاقی، گرمای تابشی جزو عوامل خارجی قابل اصلاح هستند. شرایط غیرطبیعی بالینی شامل کریپتورکیدیسم و واریکوسل (اتساع ورید اسپرماتید) می‌باشند (۴۲). از دست رفتن قابل توجه سلول‌های زایا از طریق آپوپتوز پس از هایپرترمی گزارش شده است. به‌خصوص اسپرماتوسیت و اسپرم، با توجه به تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی قابل توجه در میوز، به شرایط نامطلوب آسیب پذیرتر هستند (۴۳). بیشتر سلول‌ها قادرند که برای زنده ماندن در این شرایط نامطلوب و مقابله با تجمع پروتئین‌های دناتوره پاسخ شوک حرارتی را که به طور عمده توسط عوامل شوک حرارتی (Heat shock factors) تنظیم می‌شود، به راه بیندازند. گزارش شده است که میزان بیان پروتئین‌های شوک حرارتی مانند HSPA2 در اسپرم افراد نابارور پایین‌تر از افراد بارور است. این مسئله همچنین در افراد نابارور با واریکوسل که با هایپرترمی اسکروتومی رو به رو هستند نیز مشاهده شده است (۴۸-۴۴).

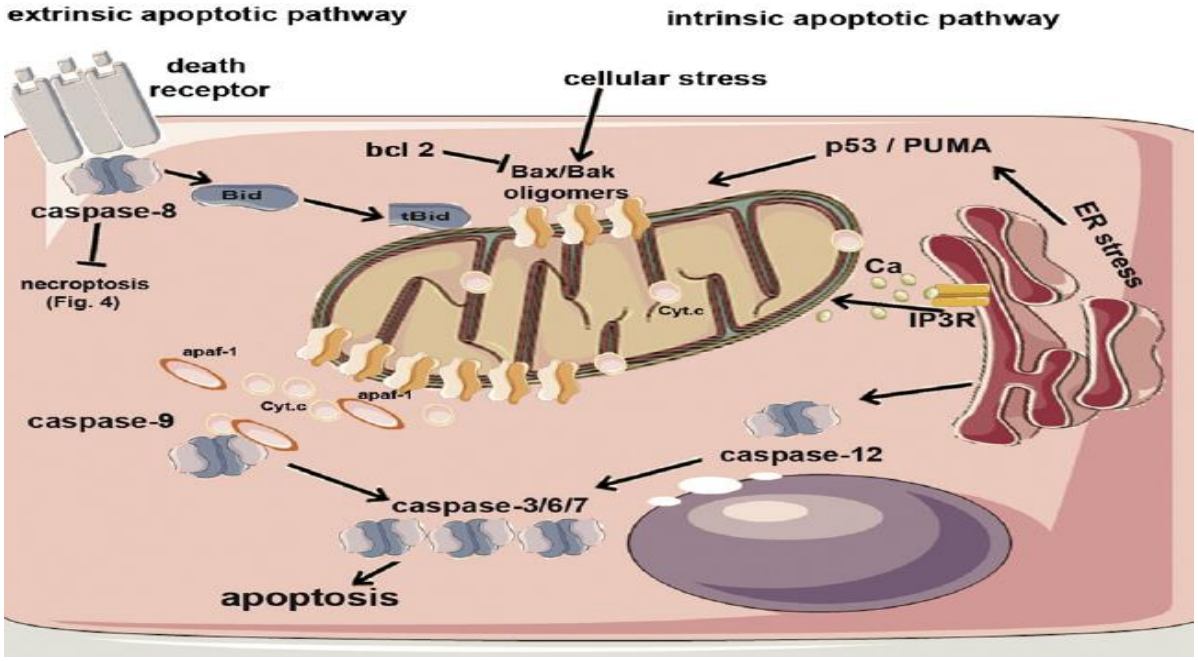
القا آپوپتوز می‌تواند از طریق مسیرهای گیرنده مرگ، میتوکندریایی و یا شبکه آندوپلاسمی صورت

www.SID.ir

Archive of SID

گیرد که در ادامه به شرح آن‌ها پرداخته می‌شود. مسیر خارجی با اتصال Tumor necrosis factor-α (TNFα)، Fas ligand (FasL) و یا (TRAIL) TNF-related apoptosis-inducing ligand به گیرنده‌های مرگ مربوطه بر روی سطح سلول، فعال می‌شود. فعال شدن این گیرنده‌ها باعث تجمع کمپلکسی مرتبط با غشا به نام (DISC) Membrane associated death-inducing signaling complex می‌شود. این کمپلکس خود باعث فراخوانی کاسپازهای (Caspases) آغازگر مانند کاسپازهای ۸ و ۱۰ می‌گردد که سپس به فعالسازی کاسپازهای اجرایی و آپوپتوز منجر می‌شود. مسیر داخلی آپوپتوز توسط استرس داخل سلولی مانند آسیب DNA یا خروج فاکتورهای رشد آغاز می‌شود. این نوع استرس‌ها باعث فعال شدن بعضی اعضای خانواده پروتئینی Bcl-2 مانند Bak و Bax می‌شود. این پروتئین‌ها الیگومریزه می‌شوند و روی غشای خارجی میتوکندری منافذی ایجاد می‌کنند. سپس سیتوکروم C و یکسری از فاکتورهای میتوکندریایی دیگر از طریق این منافذ به درون سیتوزول رهایش پیدا می‌کنند. از میان فاکتورهای رهایش یافته، سیتوکروم C در کنار سایر فاکتورها مانند کاسپاز ۹ آپوپتوزوم را تشکیل می‌دهند و سایر فاکتورها مهار را از کاسپازهای اجرایی برمی‌دارند و آن‌ها را فعال می‌کنند (۴۹).

استرس شبکه آندوپلاسمی نیز در آپوپتوز نقش دارد. فعال شدن پاسخ پروتئین تا نخورده به طور کلی به‌عنوان پاسخ بقا در نظر گرفته می‌شود؛ اما در مواردی که عملکرد طبیعی شبکه آندوپلاسمی‌ترمیم نمی‌شود، نوع پاسخ از بقا به آپوپتوز تغییر می‌یابد که شامل آزادسازی کلسیم از شبکه آندوپلاسمی و پس از آن فعالسازی کاسپازهای اجرایی، تنظیم منفی Bcl-2 و افزایش تولید و انتشار ROS به سیتوپلاسم می‌شود (۳۲) (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره ۳: مسیرهای آپوپتوز و مولکول‌های درگیر در آن‌ها

آپوپتوز می‌تواند از سه مسیر گیرنده مرگ، میتوکندریایی و استرس شبکه آندوپلاسمی فعال شود؛ هرکدام از این مسیرها آغازگرهای اختصاصی خود را دارند ولی همگی به فعال شدن کاسپازهای اجرایی ۳/۶/۷ منجر می‌شوند (۵۰)

چندین شاخص مربوط به مراحل اولیه و انتهایی می‌توانند برای شناسایی آپوپتوز در اسپرم انسان مورد استفاده قرار گیرند. فعال شدن فسفاتیدیل سرین (Phosphatidylserine) علامت‌گذاری شده توسط

www.SID.ir

Archive of SID

کاسپازها یکی از نشانگرهای اولیه آپوپتوز است (۵۱). بررسی فعالیت کاسپازها نیز مارکر دیگری است که به‌منظور نشان دادن فعال بودن آپوپتوز استفاده می‌شود (۵۲). از دیگر نشانگرهای آپوپتوز می‌توان به Fas (TNF Receptor Superfamily, Member 6) اشاره نمود (۵۳). همچنین قطعه قطعه شدن DNA یکی از شناخته شده‌ترین نشانگرهای مراحل انتهایی آپوپتوز است (۵۱).

خارج شدن فسفاتیدیل سرین، به‌عنوان یک رویداد اولیه از فاز اجرایی آپوپتوز، به‌عنوان یکی از سیگنال‌های تشخیص و حذف اختصاصی سلول‌های آپوپتوتیک توسط فاگوسیتوز در نظر گرفته می‌شود (۵۴). در مایع منی انزال شده، افزایش میزان خروج فسفاتیدیل سرین با کاهش پارامترهای اسپرمی مانند تحرک اسپرم، مورفولوژی و یا غلظت، همراه است (۵۱)؛ بنابراین، گزارش شده است که وقوع اسپرم آپوپتوزی در نمونه‌های منی از مردان نابارور در مقایسه با مردان بارور بالاتر است (۵۵). با وجود آنکه فسفاتیدیل سرین خروج یافته Externalized phosphatidylserine (EPS) به‌عنوان یک علامت اولیه از آپوپتوز در اسپرم در نظر گرفته می‌شود (۵۴).

محققان نشان داده‌اند که EPS بخشی از فرایند فیزیولوژیکی ظرفیت‌یابی (Capacitation) و واکنش آکروزومی (Acrosome reaction) هنگام جدایی اسپرم از مایع منی در حضور واسطه‌های طبیعی و شیمیایی ظرفیت‌یابی واکنش آکروزومی، مانند سرم، پروژسترون، یونوفورها و مایع فولیکولی است. علاوه بر این، ممکن است که در طول تعامل تخمک با اسپرم، EPS در غشای اسپرم نقشی، همانند تعامل سلول‌های آپوپتوزی با فاگوسیت‌ها بازی کند (۵۶،۵۷).

شواهد غیرمستقیم نشان می‌دهند که اسپرم‌های نشان‌دهنده EPS در انزال توانایی کمتری برای انجام ظرفیت‌یابی دارند. علاوه بر این، بین آپوپتوز و ظرفیت‌یابی رابطه معکوسی وجود دارد که نشان می‌دهد، اسپرم‌های تحت ظرفیت‌یابی، غیر آپوپتوزی هستند و در نتیجه اسپرم‌های آپوپتوزی توانایی کمتری برای انجام ظرفیت‌یابی دارند (۵۸)؛ بنابراین، همه عوامل خارجی القاکننده آپوپتوز، مانند H_2O_2، نمی‌توانند خارج شدن PE را القا کنند؛ در حالی که، کاسپازها را فعال می‌کنند (۵۹). این مسئله نشان‌دهنده این است که خارج شدن PS در اسپرم پس از انزال به‌طور مستقیم با آپوپتوز ارتباط ندارد. با داشتن این مسئله در ذهن، می‌توان نتیجه گرفت که EPS در انزال قبل از ظرفیت‌یابی ممکن است شاخصی برای فرار از آپوپتوز باشد، با این حال، افزایش در EPS به دنبال قرار گرفتن اسپرم در معرض محیط ظرفیت‌یابی و القاء واکنش آکروزومی بخشی از فرایند فیزیولوژیک برای رسیدن به لقاح است (۶۰-۵۷).

تقریباً همه مسیرهای آپوپتوز منجر به فعال شدن پروتئازهای خاص آسپارتات وابسته به سیستئین (کاسپازها) می‌شوند. کاسپازهای آپوپتوزی از کاسپازهای آغازگر بالادست مانند کاسپازهای ۲، ۸، ۹ و ۱۰ و کاسپازهای اجرایی مانند کاسپازهای ۳، ۶ و ۷ تشکیل شده‌اند (۶۱). حضور کاسپازهای ۳ و ۷ در اسپرم تازه انزال شده نشان داده شده است که این مسئله می‌تواند حاکی از این باشد که هنگام انزال درصد زیادی از اسپرم‌ها فعال شده‌اند تا از طریق آپوپتوز بمیرند (۶۳،۶۲). نشان داده شده است که سطح کاسپاز ۹ در مردان که واریکوسل دارند، در مقایسه با مردان الیگوآستنوتراتوزواسپرمی (Oligoasthenozoospermia) بدون واریکوسل و مردان بارور به‌طور چشمگیری بالاتر است (۶۴). با بررسی متون می‌توان مشاهده نمود که محققان بسیاری از کاسپازها به‌عنوان مارکرهایی مناسب برای آپوپتوز استفاده کرده‌اند (۶۶-۶۲). همچنین یافته‌های اخیر فعال شدن کاسپازهای اجرایی و ارتباط آن‌ها را با نوع دیگری از مرگ سلولی به نام اتوفاژی (Autophagy) در اسپرم انسان نشان داده‌اند (۶۵).

ویژگی‌های طبیعی مایع منی با وجود درصد پایینی از اسپرم‌های Fas مثبت، مرتبط دانسته شده است. به‌علاوه، در مطالعه‌ای بیان شد که در مردان با پارامترهای غیرطبیعی مایع منی، سطح اسپرم‌های Fas مثبت می‌تواند

www.SID.ir

Archive of SID

تا ۵۰٪ هم بالا رود. این نتایج نشان می‌دهد که پاکسازی کامل اسپرم در مردان نابارور از طریق آپوپتوز حاصل نمی‌شود. وجود اسپرم‌هایی که نشانگرهای آپوپتوز را دارند، می‌تواند بیانگر این مسئله باشد که در مردانی که پارامترهای غیرطبیعی مایع منی دارند، پدیده‌ی "فرار از آپوپتوز" رخ می‌دهد (۶۷). در مقابل، مطالعات بعدی ظاهراً به نتیجه‌گیری مخالفی رسیدند و نشان دادند که حضور پروتئین Fas در اسپرم انزال شده مردان نرموزواسپرمی (Normozoospermia) و غیر نرموزواسپرمی تشخیص داده نمی‌شود (۶۹،۶۸). در مطالعه‌ای دیگر نتایج نشان داد که بیان Fas در اسپرم افراد نابارور به میزان کمی اتفاق می‌افتد. مقدار متوسط بیان Fas در این مطالعه حدود ۴٪ با دامنه‌ای بین ۲۳/۵٪–۰/۰۲٪ بود که بسیار پایین‌تر از ارزش گزارش شده ۵۰–۱۰ درصدی قبلی است (۵۳).

به منظور بررسی آسیب DNA در اسپرم از روش‌های متعددی می‌توان بهره جست که از میان آن‌ها می‌توان به آزمون Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL)، سنجش ساختار کروماتین اسپرم (Sperm chromatin structure assay)، Sperm chromatin dispersion (SCD)، آکریدین اورانژ Acridine orange (AO) و COMET اشاره نمود (۷۰). با بهره‌گیری از این آزمون‌ها دانشمندان مشخص کرده‌اند که مردانی که پارامترهای غیرطبیعی مایع منی دارند، سطح بالایی از آسیب DNA را نشان می‌دهند و در نتیجه آسیب DNA می‌تواند بیوماکر مناسبی برای ارزیابی کیفیت مایع منی باشد (۷۱).

زمانی تصور می‌شد که تقریباً تمام مرگ سلولی تنظیم شده در سلول‌های پستانداران، ناشی از فعال شدن وابسته به کاسپاز، آپوپتوز است. اخیراً دو مسیر مرگ سلولی غیرآپوپتوزی (Nonapoptotic cell death) به نام‌های اتوفاژی و فروپتوز (Ferroptosis) بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۷۳،۷۲). از آنجایی که شواهد کم و غیرمستقیمی درباره‌ی فروپتوز در سلول‌های زایای نر وجود دارد، درباره اتوفاژی بیشتر بحث خواهد شد و جالب توجه است که این نوع مرگ سلولی ذاتاً مسیری برای حفظ بقا در سلول هاست.

اتوفاژی نوعی دیگر از مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی است که در سلول‌های زایا و اسپرم مطرح شده است. اتوفاژی می‌تواند در سلول‌ها تحت موقعیت‌های استرس زای متفاوتی مانند آسیب ایسکمی، استرس اکسیداتیو، استرس شبکه‌ی آندوپلاسمی، فقدان فاکتور رشد، استرس گرمایی و غیره فعال شود. همچنین گرما می‌تواند باعث القا اتوفاژی در سلول‌های کبدی موش گردد (۷۴).

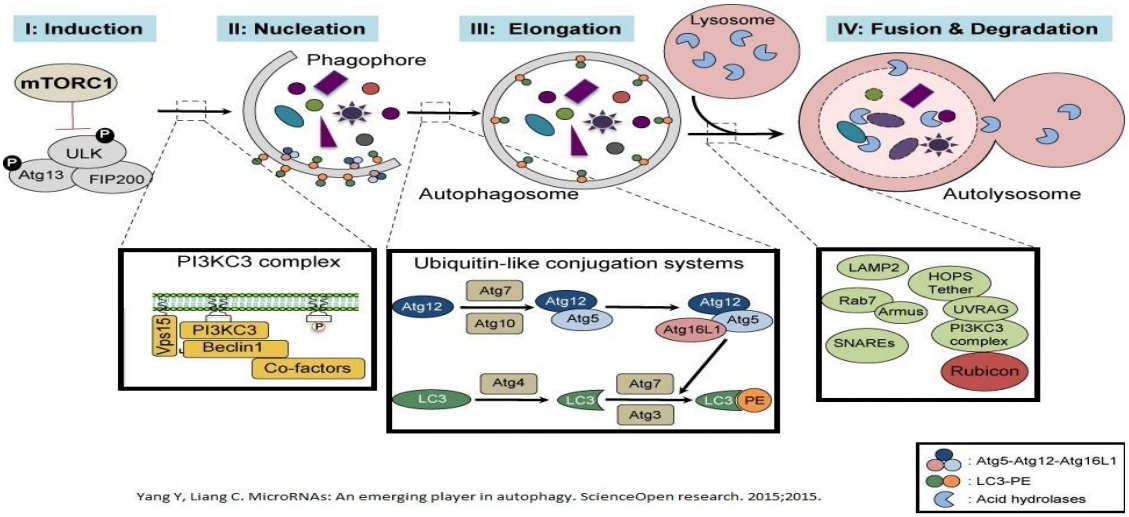
اتوفاژی که از زبان یونانی به معنی خودخواری می‌آید، یک سیستم اصلی تجزیه‌ی پروتئین است که پروتئین‌های سیتوپلاسمی با عمر بالا و ارگانل‌ها را مورد هدف قرار می‌دهد. این فرایند کاتابولیک به‌صورت گسترده به‌عنوان پاسخ به استرس عمل می‌کند و در تمام سلول‌های یوکاریوتی به‌صورت حفاظت شده وجود دارد. سه فرم اصلی اتوفاژی معرفی شده است: اتوفاژی به‌واسطه‌ی چاپرون، میکرواتوفاژی و ماکرواتوفاژی (آنچه در اینجا به‌عنوان اتوفاژی خوانده می‌شود) که هر سه علیرغم تفاوت در مسیر انتقال مواد به لیزوزوم در مراحل اصلی و پایانی تجزیه لیزوزومی پروتئین‌ها به‌وسیله‌ی هیدرولازها مشابه می‌باشند. اگرچه پیشرفت قابل توجهی برای فهم کنترل و تنظیم اتوفاژی با توجه به آغاز، تشکیل، طویل سازی و بلوغ اتوفاگوزوم (Autophagosome) صورت گرفته است اما هنوز پرسش‌های مرتبط با پیش‌بینی اینکه ماشین اتوفاژی چه زمانی و چگونه بر مرگ یا زنده ماندن سلول اثر می‌گذارد، بی‌پاسخ هستند (۷۵).

اتوفاژی با تشکیل یک وزیکول دو غشایی به دور مواد سیتوپلاسمی به نام اتوفاگوزوم، شروع می‌شود. اتوفاگوزوم‌ها در طول اسکلت سلولی حرکت می‌کنند و با لیزوزوم‌ها ترکیب می‌شوند و اتولیزوزوم‌ها (Autolysosome)

www.SID.ir

Archive of SID

را می‌سازند. درون اتولیزوزوم‌ها، غشا فاگولیزوزوم و مواد درونش توسط هیدرولازهای مقیم در آنجا تجزیه می‌شوند (۷۶). دو سیستم کونژوگاسیون شبه یوبی‌کوئیتینی، Atg12-Atg5 و LC3- لیپید/ غشا، ماشین مرکزی برای تشکیل اتوفاگوزوم هستند. Atg7 که با آنزیم فعال‌کننده‌ی یوبی‌کوئیتین E1 (Uba1) همولوگ می‌باشد، برای هر دو این سیستم‌های کونژوگاسیون لازم است. ابتدا از طریق یک مکانیسم وابسته به ATP، Atg12 توسط Atg7 فعال می‌شود و به آنزیم Ubiquitin-conjugating like Atg10 و سپس پروتئین هدف Atg5 منتقل می‌شود تا کونژوگه Atg12-Atg5 را بسازد و درنهایت Atg16 را برای ایجاد یک کمپلکس فراخوانی کند. این کمپلکس به‌عنوان یک یوبی‌کوئیتین لیگاز E3 برای سیستم دوم کونژوگاسیون شبه یوبی‌کوئیتینی، کونژوگاسیون LC3- لیپید/ غشا عمل می‌کند. LC3-I که فرم محلول پروتئین LC3 است نیز با Atg7 فعال و به آنزیم شبه E2 (Atg3) منتقل و در آخر با لیپید/ غشا کونژوگه می‌شود و به فرم LC3-II که وزن مولکولی بیشتری نسبت به LC3-I دارد، تبدیل می‌شود. به‌عنوان یک پروتئین درون غشایی، LC3- لیپید/ غشا به‌عنوان داربست برای گسترش غشا و تکمیل وزیکول نامزد است. در آخر، LC3 باقیمانده برطرف خارجی وزیکول توسط Atg4 آزاد و برای یک واکنش کونژوگاسیون دیگر استفاده ولی LC3 بر روی سطح داخلی در اتولیزوزوم‌ها تجزیه می‌شود (۷۷-۷۹) (تصویر شماره ۴). اتوفاژی امروزه به‌عنوان شکل دوم مرگ برنامه‌ریزی شده سلول شناخته می‌شود. تحقیقات پیشین گزارش کرده بودند که طی مرگ سلولی، اتوفاژی می‌تواند، یا در یک راستا با آپوپتوز و یا به‌عنوان آنتاگونیست (Antagonist) برای آن عمل کند (۷۴).



Yang Y, Liang C. MicroRNAs: An emerging player in autophagy. ScienceOpen research. 2015;2015.

تصویر شماره ۴: مراحل اتوفاژی و مولکول‌های درگیر در آن

اتوفاژی در پستانداران با تشکیل فاگوفور شروع می‌شود؛ به دنبال آن یکسری مراحل صورت می‌گیرد که شامل طویل شدن و توسعه فاگوفور، بسته و کامل شدن اتوفاگوزوم دو غشایی، بلوغ اتوفاگوزوم از راه اتصال و ادغام با یک اندوزوم (محصول ادغام به نام اتولیزوزوم خوانده می‌شود)، شکست و تجزیه غشای داخلی اتوفاگوزوم و محموله به‌وسیله‌ی اسید هیدرولازهای درون اتولیزوزوم و بازیافت ماکرومولکول‌های حاصل از طریق پرمئازها می‌شود. سیستم‌های کونژوگاسیون Atg12 و LC3 برای تشکیل اتوفاگوزوم ضروری هستند. در سیستم اول Atg12 با Atg7 و Atg10 فعال و با Atg5 کونژوگه باعث پیشرفت تشکیل فاگوفور می‌شود. در سیستم دوم LC3-I با Atg3 و Atg7 فعال و به فسفاتیدیل اتانول آمین متصل، به LC3-II تبدیل و باعث تکمیل تشکیل اتوفاگوزوم می‌شود (۸۰).

www.SID.ir

Archive of SID

فروپتوز شکلی از مرگ سلولی تنظیم شده است که به‌تازگی به رسمیت شناخته شده است و به لحاظ مورفولوژی با حضور میتوکندری‌های کوچک تر از حالت عادی با غشای متراکم، کاهش یا اضمحلال کریستای میتوکندری و پارگی غشاء بیرونی میتوکندری مشخص می‌شود. در القا فروپتوز، فعال شدن کانال‌های آنیونی وابسته به ولتاژ میتوکندریایی (Mitochondrial voltage-dependent anion channels) و پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن (Mitogen-activated protein kinases)، تنظیم مثبت استرس شبکه آندوپلاسمی و مهار آنتی‌پورتر سیستین/ گلوتامات (Cystine/glutamate antiporter) دیده شده است. مرگ فروپتوزی ازلحاظ مورفولوژی، بیوشیمیایی و ژنتیکی از آپوپتوز، اشکال مختلف نکروز (Necrosis) و اتوفاژی متمایز است. این فرایند توسط تجمع بسیار زیاد و وابسته به آهن ROS های حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی کشنده، مشخص می‌شود. برخلاف سایر اشکال مرگ آپوپتوزی و غیر آپوپتوزی، به نظر می‌رسد که این شرط برای تجمع ROS کلی است. به نظر می‌رسد که "جلادان (Executioner)" در این نوع از مرگ سلولی خود ROS های تجمع یافته و نه کمپلکس‌های پروتئینی هستند (۸۱،۷۳).

گلوتاتین پراکسیداز ۴ (Glutathione peroxidase 4)، پروتئین شوک حرارتی بتا- ۱ (Heat shock protein beta-1)، فاکتور ۲ مرتبط با فاکتور هسته‌ای اریتروئید ۲ (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2)، تنظیم گرهای منفی فروپتوز هستند که به ترتیب از طریق محدود کردن تولید ROS و کاستن جذب سلولی آهن عمل می‌کنند. در مقابل NADPH اکسیداز (NADPH oxidase) و P53 (به‌خصوص فرم استیله آن) به ترتیب، با افزایش تولید ROS و مهار بیان زیر واحد خاصی از آنتی‌پورتر سیستین/ گلوتامات به نام SLC7A11، تنظیم‌گرهای مثبت آن هستند. به هم خوردن تنظیم فروپتوز با چندین فرایند فیزیولوژیک و پاتولوژیک مانند مرگ سلول‌های سرطانی، سمیت نورونی (Neurotoxicity)، بیماری‌های تحلیل عصبی، نارسایی حاد کلیه، ایسکمی قلبی و کبدی و ایمنی به‌واسطه سلول‌های T مرتبط دانسته شده است (۸۱).

بحث:

آپوپتوز شناخته شده ترین فرایند مرگ سلولی است. آپوپتوز فرایندی بسیار تنظیم شده و از لحاظ تکاملی حفاظت شده است که این امر حکایت از اهمیت بالای آن دارد. ازلحاظ ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی، ویژگی‌های آپوپتوز به‌صورت چروکیدگی سلول، وزیکوله شدن غشا، تراکم بیش‌ازحد کروماتین، قطعه قطعه شدن هسته و در آخر تشکیل اجسام آپوپتوزی توصیف می‌شود. این نوع حذف سلول به سلول‌ها و بافت‌های مجاور کمترین آسیب را می‌زند (۸۲). اسپرم به‌طور پیش‌فرض محکوم به آپوپتوز است. درصورتی‌که لقاح رخ ندهد، بیشتر اسپرم‌ها پیر و وارد فرایند آپوپتوز می‌شوند. در بیضه افراد بالغ، طی یک اسپرماتوژنز نرمال سلول‌های زایا دچار تجزیه خود به خودی می‌شوند. تخمین زده شده است که طی این تجزیه، ۷۵٪-۲۵٪ این سلول‌ها از دست می‌روند (۸۳).

افزایش یافتن استرس اکسیداتیو در مایع منی مردان نابارور پیشنهاد می‌کند که استرس اکسیداتیو در اختلالات ساختاری و ظرفیت‌های عملکردی اسپرم از طریق مکانیسم‌های مختلف نقش مهمی ایفا می‌کند. این واقعیت که سطوح افزایش‌یافته ROS با اختلال در تعداد، تحرک، شکل و سلامت DNA اسپرم مرتبط است نشان‌دهنده‌ی این نقش پراهمیت است (۸۲،۱۹).

طی اسپرمیوژنز ۹۵٪-۹۰٪ هیستون‌ها با پروتامین جایگزین می‌شوند. نتیجه این امر تراکم بیشتر کروماتین اسپرم است که از آن در برابر نوکلئازها محافظت و امکان جایگیری آن را در فضای بسیار اندک سر اسپرم

www.SID.ir

Archive of SID

فراهم می‌کند (۲۲). همانطور که قبلاً هم اشاره شد، کمبود پروتامین بر نتیجه لقاح و کیفیت جنین پس از ICSI اثرگذار است و احتمالاً باعث تراکم زودرس کروماتین اسپرم می‌گردد که این مسئله می‌تواند بر نتایج لانه گزینی و حاملگی تأثیرگذار باشد (۸۴). به نظر می‌رسد که تأثیر کمبود پروتامین بر نتیجه لقاح پس از ICSI حتی از پارامترهای اسپرمی و واکنش آکروزمی مهم‌تر است (۸۵).

هنگامی‌که آپوپتوز به راه می افتد نوکلئازهای (Nucleases) مختلفی فعال می‌شوند که باعث آسیب گسترده به DNA می‌گردند. فعالیت این نوکلئازها به همراه حمله ROSها باعث آسیب رسیدن به DNA اسپرم می‌شود. علاوه بر این، در صورت بسته‌بندی نامناسب کروماتین اسپرم درنتیجه‌ی کمبود پروتامین، کروماتین در معرض بیشتر حمله ROS ای و نوکلئازی قرار می‌گیرد و مستعد آسیب بیشتری می‌گردد (۸۲،۱۹). از طرف دیگر، از آنجا که عملکرد و تکثیر سلول‌ها وابسته به سلامت DNA است، آسیب شدید به DNA در اثر فعالیت بالای ROS و کمبود پروتامین، خود می‌تواند به مرگ سلولی و یا القا جهش منجر گردد (۱۹). از این رو شاید بتوان نتیجه گرفت که بین آسیب DNA و آپوپتوز یک رابطه‌ی دوطرفه برقرار است.

شواهد اخیر حاکی از حضور نوعی مرگ سلولی دیگر به نام اتوفاژی در سلول‌های زایای نر و اسپرم هستند. اتوفاژی در شرایط عادی سلول یک مکانیسم بقا محسوب می‌شود؛ اما در صورتی که القا بیش از حد آن در سلول اتفاق بیافتد، باعث مرگ سلول می‌گردد و چون به فعال شدن کاسپازها و قطعه قطعه شدن DNA نیاز ندارد به عنوان نوع دوم مرگ سلولی شناخته می‌شود. گزارشات اخیر از اهمیت اتوفاژی در تکوین سلول‌های زایای نر و اسپرماتوژنز خبر می‌دهند. مطالعه‌ای نشان داده است که گرما باعث القا اتوفاژی و آپوپتوز در سلول‌های زایا موش می‌شود و این دو در راستای یکدیگر، به گونه‌ای عمل می‌کنند که منجر به القاء مرگ سلولی و تخریب اسپرماتوژنز گردند. همچنین این مطالعه مشخص کرد که Atg7 و سیستم‌های شبه یوبیکوئیتنی همراه آن در القا اتوفاژی به‌واسطه حرارت درگیر هستند (۷۴). در مطالعه‌ای دیگر بر روی اسپرم اسب محققان به این نتیجه رسیدند که هنگام نگهداری اسپرم نریان در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اتوفاژی فعال می‌شود و حضور LC3 را در این شرایط گزارش کردند (۸۶).

دانشمندان مشخص کرده‌اند که Atg7 و احتمالاً کل ماشین اتوفاژی، در بیوژنز آکروزوم در موش، حیاتی هستند و در انتقال و ادغام وزیکول‌های آمده از دستگاه گلژی به‌منظور شکل‌گیری آکروزوم نقش دارند (۷۶). همچنین نقش اتوفاژی در مسیرهای فسفاتازی در سلول‌های زایا مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده است که یکی از زیر واحدهای تنظیمی پروتئین فسفاتاز ۱ به نام Ppp1r36 و LC3 (به‌خصوص فرم فعال آن، LC3II) طی اسپرماتوژنز، الگوهای بیان مشابهی دارند. علاوه بر این، در مطالعه‌ای که به این موضوع پرداخته است، بیان شد که اتوفاژی در روز ۲۱ پس از تولد، در بیضه، تحت تنظیم مثبت قرار می‌گیرد و این مسئله می‌تواند حاکی از نقش احتمالی اتوفاژی در اولین موج اسپرماتوژنز باشد. این محققان نشان دادند که Ppp1r36 حین فقر غذایی، باعث پیشرفت در تشکیل اتوفاگوزوم می‌گردد. همچنین نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که این زیر واحد تنظیمی با یکی از اجزای ماشین اتوفاژی به نام Atg16L مرتبط است. با توجه به این یافته‌ها آن‌ها نتیجه گرفتند که Ppp1r36 در افزایش اتوفاژی طی اسپرماتوژنز نقش ایفا می‌کند (۸۷). علاوه بر این، به تازگی نشان داده شده است که ماشین مولکولی اتوفاژی، پروتئین‌های مرتبط با اتوفاژی و تنظیم‌گرهای بالادست آن، در اسپرماتوزوا انسان حضور و عملکرد دارند. در این مطالعه پس از فعال‌سازی و یا مهار مسیر اتوفاژی تغییراتی در الگوی بیان پروتئین‌های میتوکندریایی دیده شد که این مسئله می‌تواند نشانگر نقش تنظیمی نوع خاصی از اتوفاژی به نام میتوفاژی در عملکرد اسپرم همانند تحرک و زنده‌مانی و همکاری آن

www.SID.ir

Archive of SID

با آپوپتوز باشد (۶۵). البته به نظر می‌رسد که این تمام عملکردی نباشد که اتوفاژی در سلول‌های زایا و اسپرم انجام می‌دهند و برای روشن شدن موضوع به مطالعات بیشتری نیاز است.

فروپتوز نوعی مرگ وابسته به آهن و پراکسیداسیون لیپیدی مستقل از کاسپاز است که در سال ۲۰۱۲ توسط دکتر برنت استاکول نام گذاری شد (۷۳). یکی از تنظیم‌گرهای مهم فروپتوز آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است که یکی از آنزیم‌های اصلی در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (۸۱). محققان نشان داده‌اند که بیان mRNA فرم‌های میتوکندریایی و هسته‌ای گلوتاتیون پراکسیداز ۴، طی اسپرماتوژنز در بیضه افزایش قابل توجهی دارد. همچنین گزارش شده است که موش‌های نری که در آن‌ها ژن گلوتاتیون پراکسیداز ۴، حذف شده، دچار ناباروری در اثر آسیب ساختاری میتوکندری اسپرم می‌گردند (۸۸). همچنین در مطالعه‌ای دیگر عنوان شده است که در اسپرم مردان نابارور الیگوآستنوزواسپرمی نیز نقص در بیان گلوتاتیون پراکسیداز ۴ مشاهده شده است (۸۹). علاوه بر این، به‌تازگی محققان القا فروپتوز را در پاسخ به P53 در بافت بیضه موش نشان داده‌اند (۹۰).

نتیجه‌گیری:

رخداد آپوپتوز در حد طبیعی خود به‌منظور دستیابی به یک اسپرماتوژنز موفق لازم است. بروز نقص در این فرایند باعث می‌شود که اسپرم‌های معیوب حذف نشوند و در مایع منی حضور داشته باشند. این امر می‌تواند منجر به کاهش باروری در مردان گردد. از آنجایی که درصد زیادی از این اسپرم‌های معیوب در DNA خود نقص دارند، احتمال شکست در لقاح در این افراد در صورت استفاده از روش‌های کمک باروری مانند ICSI، بالا است. در نتیجه به نظر می‌رسد که یک راهکار درمانی برای این افراد شناسایی اسپرم‌های آپوپتوزی با نقص DNA و حذف آن‌ها از مایع منی آن‌ها است. اگرچه به نظر می‌رسد که مسیر اصلی مرگ سلولی در اسپرم، آپوپتوز است اما نباید از سایر اشکال مرگ سلولی در این رابطه، چشم‌پوشی کرد. برای مثال به نظر می‌رسد که اتوفاژی نقش‌های متعددی مانند شکل‌گیری آکروزوم، حیات و تحرک اسپرم، حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده در اسپرم، حذف سلول‌های زایا در شرایط استرس گرمایی و کمک به بقای اسپرم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در اسپرماتوژنز بازی می‌کند. البته برای روشن شدن این مسئله و همچنین نقش سایر اشکال مرگ سلولی مانند فروپتوز در اسپرماتوژنز و شرایط پاتولوژیک مربوط به ناباروری مردان، به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

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. Sakkas D, Urner F, Bizzaro D, Manicardi G, Bianchi PG, Shoukir Y, et al. Sperm nuclear DNA damage and altered chromatin structure: Effect on fertilization and embryo development. Hum Reprod. 1998; (4): 11-9.
2. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzaro D, Bianchi PG, Bianchi U. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. Rev Reprod. 1999; 4(1): 31-7.
3. Zini A, Fischer MA, Sharir S, Shayegan B, Phang D, Jarvi K. Prevalence of abnormal sperm DNA denaturation in fertile and infertile men. Urology. 2002; 60(6): 1069-72.
4. Sakkas D, Seli E, Bizzaro D, Tarozzi N, Manicardi GC. Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling during spermatogenesis. Reprod Biomed Online. 2003; 7(4): 428-32.

www.SID.ir

Archive of SID

5. Aitken RJ, Gibb Z, Baker MA, Drevet J, Gharagozloo P. Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. Reprod Fertil Dev. 2016; 28(1-2): 1-10.
6. 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.
7. Chocu S, Calvel P, Rolland AD, Pineau C. Spermatogenesis in mammals: proteomic insights. Syst Biol Reprod Med. 2012; 58(4): 179-90.
8. Oliveira PF, Alves MG. Sertoli Cell Metabolism and Spermatogenesis. Springer; 2015.
9. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mozdarani H, Mardani M, Azvagi H. Relationship between protamine deficiency with fertilization rate and incidence of sperm premature chromosomal condensation post-ICSI. Andrologia. 2004; 36(3): 95-100.
10. Nasr-Esfahani MH, Naghshizadian N, Imani H, Razavi S, Mardani M, Kazemi S, et al. Can sperm protamine deficiency induce sperm premature chromosomal condensation? Andrologia. 2006; 38(3): 92-8.
11. 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.
12. Modarres P, Tanhaei S, Tavalaee M, Ghaedi K, Deemeh MR, Nasr-Esfahani MH. Assessment of DPY19L2 deletion in familial and non-familial individuals with globozoospermia and DPY19L2 genotyping. Int J Fertil Steril. 2016; 10(2): 196-207.
13. Bahreinian M, Tavalaee M, Abbasi H, Kiani-Esfahani A, Shiravi AH, Nasr-Esfahani MH. DNA hypomethylation predisposes sperm to DNA damage in individuals with varicocele. Syst Biol Reprod Med. 2015; 61(4): 179-86.
14. Chen H, Pu XY, Zhang RP, A ZC. Association of common SNP rs1136410 in PARP1 gene with the susceptibility to male infertility with oligospermia. J Assist Reprod Genet. 2014; 31(10): 1391-5.
15. Kargar-Dastjerdy P, Tavalaee M, Salehi M, Falahati M, Izadi T, Esfahani MH. Altered expression of KLC3 may affect semen parameters. Int J Reprod Biomed. 2016; 14(1): 15.
16. Tavalaee M, Bahreinian M, Barekat F, Abbasi H, Nasr-Esfahani MH. Effect of varicocelectomy on sperm functional characteristics and DNA methylation. Andrologia. 2015; 47(8): 904-9.
17. Javadirad SM, Hojati Z, Ghaedi K, Nasr-Esfahani MH. Expression ratio of histone demethylase KDM3A to protamine-1 mRNA is predictive of successful testicular sperm extraction in men with obstructive and non-obstructive azoospermia. Andrology. 2016; 4(3): 492-9.
18. Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Iuliis GN. Oxidative stress and male reproductive health. Asian J Androl. 2014; 16(1): 31-8.
19. Agarwal A, Mulgund A, Sharma R, Sabanegh E. Mechanisms of oligozoospermia: an oxidative stress perspective. Syst Biol Reprod Med. 2014; 60(4): 206-16.
20. Agarwal A, Sharma RK, Sharma R, Assidi M, Abuzenadah AM, Alshahrani S, et al. Characterizing semen parameters and their association with reactive oxygen species in infertile men. Reprod Biol Endocrinol. 2014; 12: 33.
21. Oliva R. Protamines and male infertility. Hum Reprod Update. 2006; 12(4): 417-35.
23. Torregrosa N, Dominguez-Fandos D, Camejo MI, Shirley CR, Meistrich ML, Ballesca JL, et al. Protamine 2 precursors, protamine 1/ protamine 2 ratio, DNA integrity and other sperm parameters in infertile patients. Hum Reprod. 2006; 21(8): 2084-9.
24. Francis S, Yelumalai S, Jones C, Coward K. Aberrant protamine content in sperm and consequential implications for infertility treatment. Hum Fertil. 2014; 17(2): 80-9.
25. Ni K, Steger K, Yang H, Wang H, Hu K, Chen B. Sperm protamine mRNA ratio and DNA fragmentation index represent reliable clinical biomarkers for men with varicocele after microsurgical varicocele ligation. J Urol. 2014; 192(1): 170-6.
26. Xu YR, Dong HS, Yang WX. Regulators in the apoptotic pathway during spermatogenesis: Killers or guards? Gene. 2016; 582(2): 97-111.
27. Jahnukainen K, Chrysis D, Hou M, Parvinen M, Eksborg S, Soder O. Increased apoptosis occurring during the first wave of spermatogenesis is stage-specific and primarily affects midpachytene spermatocytes in the rat testis. Biol Reprod. 2004; 70(2): 290-6.

www.SID.ir

Archive of SID

28. Shaha C, Tripathi R, Mishra DP. Male germ cell apoptosis: regulation and biology. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2010; 365(1546): 1501-15.
29. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. Science. 1998; 281(5381): 1322-6.
30. Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. Nat Cell Biol. 2011; 13(3): 184-90.
31. Yan W, Suominen J, Toppari J. Stem cell factor protects germ cells from apoptosis in vitro. J Cell Sci. 2000; 113 (1): 161-8.
32. Doyle TJ, Braun KW, McLean DJ, Wright RW, Griswold MD, Kim KH. Potential functions of retinoic acid receptor A in Sertoli cells and germ cells during spermatogenesis. Ann N Y Acad Sci. 2007; 1120: 114-30.
33. Toppari J, Suominenf JS, Yan W. The role of retinoblastoma protein family in the control of germ cell proliferation, differentiation and survival. APMIS. 2003; 111(1): 245-51.
34. Fan YS, Hu YJ, Yang WX. TGF-beta superfamily: how does it regulate testis development. Mol Biol Rep. 2012; 39(4): 4727-41.
35. O'Shaughnessy PJ. Hormonal control of germ cell development and spermatogenesis. Semin Cell Dev Biol. 2014; 29: 55-65.
36. Zhao YG, Zheng XM, Zhou J, Liu XL, Hu XM, Chen DH, et al. Sulfasalazine prevents apoptosis in spermatogenic cells after experimental testicular torsion/detorsion. Acta Pharmacol Sin. 2006; 27(5): 603-8.
37. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of oxidative stress on male reproduction. World J Mens Health. 2014; 32(1): 1-17.
38. Aitken RJ, Whiting S, De Iuliis GN, McClymont S, Mitchell LA, Baker MA. Electrophilic aldehydes generated by sperm metabolism activate mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis by targeting succinate dehydrogenase. J Biol Chem. 2012; 287(39): 33048-60.
39. van Loon B, Markkanen E, Hübscher U. Oxygen as a friend and enemy: How to combat the mutational potential of 8-oxo-guanine. DNA Repair (Amst.). 2010; 9(6): 604-16.
40. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. Reprod Biomed Online. 2015; 30(1): 14-27.
41. Nakai A, Suzuki M, Tanabe M. Arrest of spermatogenesis in mice expressing an active heat shock transcription factor 1. EMBO J. 2000; 19(7): 1545-54.
42. Morimoto RI. Regulation of the heat shock transcriptional response: Cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. Genes Dev. 1998; 12(24): 3788-96.
43. Widlak W, Winiarski B, Krawczyk A, Vydra N, Malusecka E, Krawczyk Z. Inducible 70 kDa heat shock protein does not protect spermatogenic cells from damage induced by cryptorchidism. Int J Androl. 2007; 30(2): 80-7.
44. Motiei M, Tavalaee M, Rabiei F, Hajihosseini R, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of HSPA2 in fertile and infertile individuals. Andrologia. 2013; 45(1): 66-72.
45. Motiei M, Tavalaee M, NASR EM. The role and effect of HSPA2 in male infertility. AS J. 2012; 9(37): 338-58
46. Esfahani MH, Abbasi H, Mirhosseini Z, Ghasemi N, Razavi S, Tavalaee M, et al. Can altered expression of hspa2 in varicocele patients lead to abnormal spermatogenesis? Int J Fertil Steril. 2010; 4(3): 66-9.
47. Green DR, Llambi F. Cell death signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2015; 7(12): a006080.
48. Zhang HB, Lu SM, Ma CY, Wang L, Li X, Chen ZJ. Early apoptotic changes in human spermatozoa and their relationships with conventional semen parameters and sperm DNA fragmentation. Asian J Androl. 2008; 10(2): 227-35.
49. Said TM, Paasch U, Glander HJ, Agarwal A. Role of caspases in male infertility. Hum Reprod Update. 2004; 10(1): 39-51.
50. Soleimani M, Tavalaee M, Aboutorabi R, Adib M, Bahramian H, Janzamin E, et al. Evaluation of Fas positive sperm and complement mediated lysis in subfertile individuals. J Assist Reprod Genet. 2010; 27(8): 477-82.

www.SID.ir

Archive of SID

51. Almeida C, Sousa M, Barros A. Phosphatidylserine translocation in human spermatozoa from impaired spermatogenesis. Reprod Biomed Online. 2009; 19(6): 770-7.
52. Paasch U, Grunewald S, Fitzl G, Glander HJ. Deterioration of plasma membrane is associated with activated caspases in human spermatozoa. J Androl. 2003; 24(2): 246-52.
53. Tavalaee M, Deemeh MR, Arbabian M, Kiyani A, Nasr-Esfahani MH. Relationship between fertilization rate and early apoptosis in sperm population of infertile individuals. Andrologia. 2014; 46(1): 36-41.
54. Martin G, Sabido O, Durand P, Levy R. Phosphatidylserine externalization in human sperm induced by calcium ionophore A23187: Relationship with apoptosis, membrane scrambling and the acrosome reaction. Hum Reprod. 2005; 20(12): 3459-68.
55. Zarei-Kheirabadi M, Shayegan Nia E, Tavalaee M, Deemeh MR, Arabi M, Forouzanfar M, et al. Evaluation of ubiquitin and annexin V in sperm population selected based on density gradient centrifugation and zeta potential (DGC-Zeta). J Assist Reprod Genet. 2012; 29(4): 365-71.
56. Taylor SL, Weng SL, Fox P, Duran EH, Morshedi MS, Oehninger S, et al. Somatic cell apoptosis markers and pathways in human ejaculated sperm: Potential utility as indicators of sperm quality. Mol Hum Reprod. 2004; 10(11): 825-34.
57. Muratori M, Porazzi I, Luconi M, Marchiani S, Forti G, Baldi E. AnnexinV binding and merocyanine staining fail to detect human sperm capacitation. J Androl. 2004; 25(5): 797-810.
58. Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases. Cell Death Differ. 2015; 22(4): 526-39.
59. Vakifahmetoglu-Norberg H, Norberg E, Perdomo AB, Olsson M, Ciccosanti F, Orrenius S, et al. Caspase-2 promotes cytoskeleton protein degradation during apoptotic cell death. Cell Death Dis. 2013; 4: e940.
60. Rao M, Xia W, Yang J, Hu LX, Hu SF, Lei H, et al. Transient scrotal hyperthermia affects human sperm DNA integrity, sperm apoptosis, and sperm protein expression. Andrology. 2016; 4(6): 1054-63.
61. Zalata A, El-Mogy M, Abdel-Khabir A, El-Bayoumy Y, El-Baz M, Mostafa T. Sperm caspase-9 in oligoasthenoteratozoospermic men with and without varicocele. Fertil Steril. 2011; 96(5): 1097-9.
62. Aparicio IM, Espino J, Bejarano I, Gallardo-Soler A, Campo ML, Salido GM, et al. Autophagy-related proteins are functionally active in human spermatozoa and may be involved in the regulation of cell survival and motility. Sci Rep. 2016; 6: 33647.
63. Tavalaee M, Deemeh MR, Arbabian M, Nasr-Esfahani MH. Density gradient centrifugation before or after magnetic-activated cell sorting: which technique is more useful for clinical sperm selection? J Assist Reprod Genet. 2012; 29(1): 31-8.
64. Sakkas D, Mariethoz E, St John JC. Abnormal sperm parameters in humans are indicative of an abortive apoptotic mechanism linked to the Fas-mediated pathway. Exp Cell Res. 1999; 251(2): 350-5.
65. Castro A, Parodi D, Morales I, Madariaga M, Rios R, Smith R. Absence of Fas protein detection by flow cytometry in human spermatozoa. Fertil Steril. 2004; 81(4): 1019-25.
66. Perticarari S, Ricci G, Boscolo R, De Santis M, Pagnini G, Martinelli M, et al. Fas receptor is not present on ejaculated human sperm. Hum Reprod. 2008; 23(6): 1271-9.
67. Tavalaee M, Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR. Etiology and evaluation of sperm chromatin anomalies. Int J Fertil Steril. 2008; 2(1): 119-26.
68. Ni K, Spiess AN, Schuppe HC, Steger K. The impact of sperm protamine deficiency and sperm DNA damage on human male fertility: A systematic review and meta-analysis. Andrology. 2016; 4(5): 789-99.
69. Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. Curr Opin Cell Biol. 2004; 16(6): 663-9.
70. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. Cell. 2012; 149(5): 1060-72.
71. Zhang M, Jiang M, Bi Y, Zhu H, Zhou Z, Sha J. Autophagy and apoptosis act as partners to induce germ cell death after heat stress in mice. PloS one. 2012; 7(7): e41412.
72. Loos B, Engelbrecht AM, Lockshin RA, Klionsky DJ, Zakeri Z. The variability of autophagy and cell death susceptibility: Unanswered questions. Autophagy. 2013; 9(9): 1270-85.

www.SID.ir

Archive of SID

73. Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: A history of macroautophagy. Nat Cell Biol. 2010; 12(9): 814-22.
74. Wang H, Wan H, Li X, Liu W, Chen Q, Wang Y, et al. Atg7 is required for acrosome biogenesis during spermatogenesis in mice. Cell Res. 2014; 24(7): 852-69.
75. Mizushima N, Yoshimori T. How to interpret LC3 immunoblotting. Autophagy. 2007; 3(6): 542-5.
76. Zhang S, Wang J, Du Y, Shang J, Wang L, Wang J, et al. Cell Autophagy and Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. Ischemic Heart. 2013; 24(6): 143.
77. Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X, et al. Ferroptosis: process and function. Cell Death Differ. 2016; 23(3): 369-79.
78. Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. Biochim Biophys Acta. 2016; 1863(12): 2977-92.
79. Sharma RK, Bhat RA, Goyal AK, Bhardwaj JK. Germ cells apoptosis during spermatogenesis in mammals. Int J Pharm Pharm Sci. 2014; 38(5): 68-9.
80. Nasr-Esfahani MH, Salehi M, Razavi S, Mardani M, Bahramian H, Steger K, et al. Effect of protamine-2 deficiency on ICSI outcome. Reprod Biomed Online. 2004; 9(6): 652-8.
81. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Tavalaee M. Failed fertilization after ICSI and spermiogenic defects. Fertil Steril. 2008; 89(4): 892-8.
82. Gallardo Bolanos JM, Miro Moran A, Balao da Silva CM, Morillo Rodriguez A, Plaza Davila M, Aparicio IM, et al. Autophagy and apoptosis have a role in the survival or death of stallion spermatozoa during conservation in refrigeration. PloS one. 2012; 7(1): e30688.
83. Zhang Q, Gao M, Zhang Y, Song Y, Cheng H, Zhou R. The germline-enriched Ppp1r36 promotes autophagy. Sci Rep. 2016; 6: 24609.
84. Imai H, Matsuoka M, Kumagai T, Sakamoto T, Koumura T. Lipid peroxidation-dependent cell death regulated by GPx4 and ferroptosis. Curr Top Microbiol Immunol. 2017; 403: 143-70.
85. Imai H, Suzuki K, Ishizaka K, Ichinose S, Oshima H, Okayasu I, et al. Failure of the expression of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the spermatozoa of human infertile males. Biol Reprod. 2001; 64(2): 674-83.
86. Li T, Liu X, Jiang L, Manfredi J, Zha S, Gu W. Loss of p53-mediated cell-cycle arrest, senescence and apoptosis promotes genomic instability and premature aging. Oncotarget. 2016; 7(11): 11838-49.
87. Agarwal A, Sekhon LH. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: Is it justified? Indian J Urol. 2011; 27(1): 74-85.
88. Muratori M, Marchiani S, Maggi M, Forti G, Baldi E. Origin and biological significance of DNA fragmentation in human spermatozoa. Front Biosci. 2006; 1(11): 1491-9.
89. Linkermann A, Chen G, Dong G, Kunzendorf U, Krautwald S, Dong Z. Regulated cell death in AKI. J Am Soc Nephrol. 2014; 25(12): 2689-701.
90. Yang Y, Liang C. MicroRNAs: An emerging player in autophagy. ScienceOpen Res. 2015; 44(6): 87-9.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2018; 20(4): 100-118.

Review article

Identification of sperm cell death biology

Tavalaee M[1], Foroozan-Boroojeni SH[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: 14/Feb/2017 Accepted: 1/Jul/2017

Background and aims: Cell death is a scientific area which has drawn tremendous attention in recent years. Under normal physiological conditions, cells maintain this balance via different pathways including, apoptosis, autophagy, endoplasmic reticulum response and etc. The smallest defect in preservation of this balance may result in diseases such as infertility. Since, etiology of many cases of infertility is unknown; scientists have tried to achieve a better understanding of cellular and molecular mechanisms underlying production and death of male gametes, in an effort to overcome this complication.
Methods: For this review, all relevant information was collected via databases such as PubMed and Google Scholar during the period 1998-2016.
Results: Cell death phenomenon appears to be a permanent feature in the testis and during early embryo development. Recently, three cell death pathways; apoptosis, autophagy and ferroptosis are known to be involved in physiological and pathological phenomena.
Conclusion: Conducting more investigations and paying more attention to different mechanisms of cell death in testis and sperm could lead to impressive improvement in understanding etiology of male infertility.

Keywords: **Apoptosis, Autophagy, Oxidative stress, DNA fragmentation, Male infertility.**

Cite this article as: Tavalaee M, Foroozan-Boroojeni SH, Nasr-Esfahani MH. Identification of sperm cell death biology. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(4): 100-118..

[*]**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