Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۲۰، شماره ۵/ آذر و دی ۱۳۹۷/ ۱۲۷-۱۱۰

مقاله مروری

تأثیر استرس گرمایی بر روند اسپرماتوژنز

مرضیه تولائی[1*]، نیلوفر صادقی[1]، محمدحسین نصر اصفهانی[1,2]

[1]گروه زیست فناوری تولیدمثل، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، اصفهان، ایران؛ [2]مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱

چکیده:

زمینه و هدف: **اسپرماتوژنز شامل یک سری از مراحل پیچیده است که در تمایز اسپرماتوگونی ها به اسپرم های بالغ دخالت دارد. روند تکوین اسپرماتوگونی ممکن است تحت تأثیر عوامل مختلف ازجمله: تنش گرمایی قرار گیرد و باعث کاهش کیفیت اسپرم و درنتیجه تأثیر منفی بر روی باروری گردد. به سختی می توان به طور کامل از عوامل افزایش دهنده دمای کیسه بیضه (از شیوه زندگی، شغل، محیط زیست تا شرایط پاتوفیزیولوژیکی) جلوگیری کرد؛ بنابراین، تنظیم حرارت بیضه از اهمیت زیادی جهت تضمین تولید اسپرم زنده و کارا جهت حفظ باروری برخوردار است. تعدادی از مطالعات انجام شده در طی چند دهه گذشته به اثرات نامطلوب حرارت بر روند اسپرماتوژنز در گونه های متنوع پستانداران پرداخته است. در این بررسی، به اثرات گرما بر روی سیکل اسپرماتوژنز و همچنین پاسخ مولکولی سلول های زایا به قرار گرفتن در معرض گرما و مکانیسم احتمالی دخیل در آسیب سلول های زایا ناشی از حرارت، شامل: آپوپتوز، آسیب DNA و اتوفاژی پرداخته شده است.**

روش بررسی: **در این مطالعه مقالات مربوط بین سال های ۱۹۹۷ تا ۲۰۱۶، از پایگاه داده PubMed و با کمک موتور جستجوی Google Scholar استخراج شد و مورد استفاده قرار گرفت.**

یافته ها: **دما نقش مهمی در توسعه سلول های زایای و همچنین چرخه تولیدمثل موجودات زنده ایفا می کند. لیکن عدم تنظیم حرارت کیسه بیضه باعث افزایش دمای بیضه شده که منجر به استرس حرارتی تناسلی می شود و این اختلال برای اسپرماتوژنز زیان آور است.**

نتیجه‌گیری: **بررسی و توجه بیشتر به مکانیسم های مختلف تأثیر گرما بر بیضه و اسپرم می تواند باعث پیشرفت چشمگیری در زمینه اتیولوژی ناباروری مردان گردد.**

واژه‌های کلیدی: **استرس گرمایی، اسپرماتوژنز، ناباروری، افزایش حرارت.**

مقدمه:

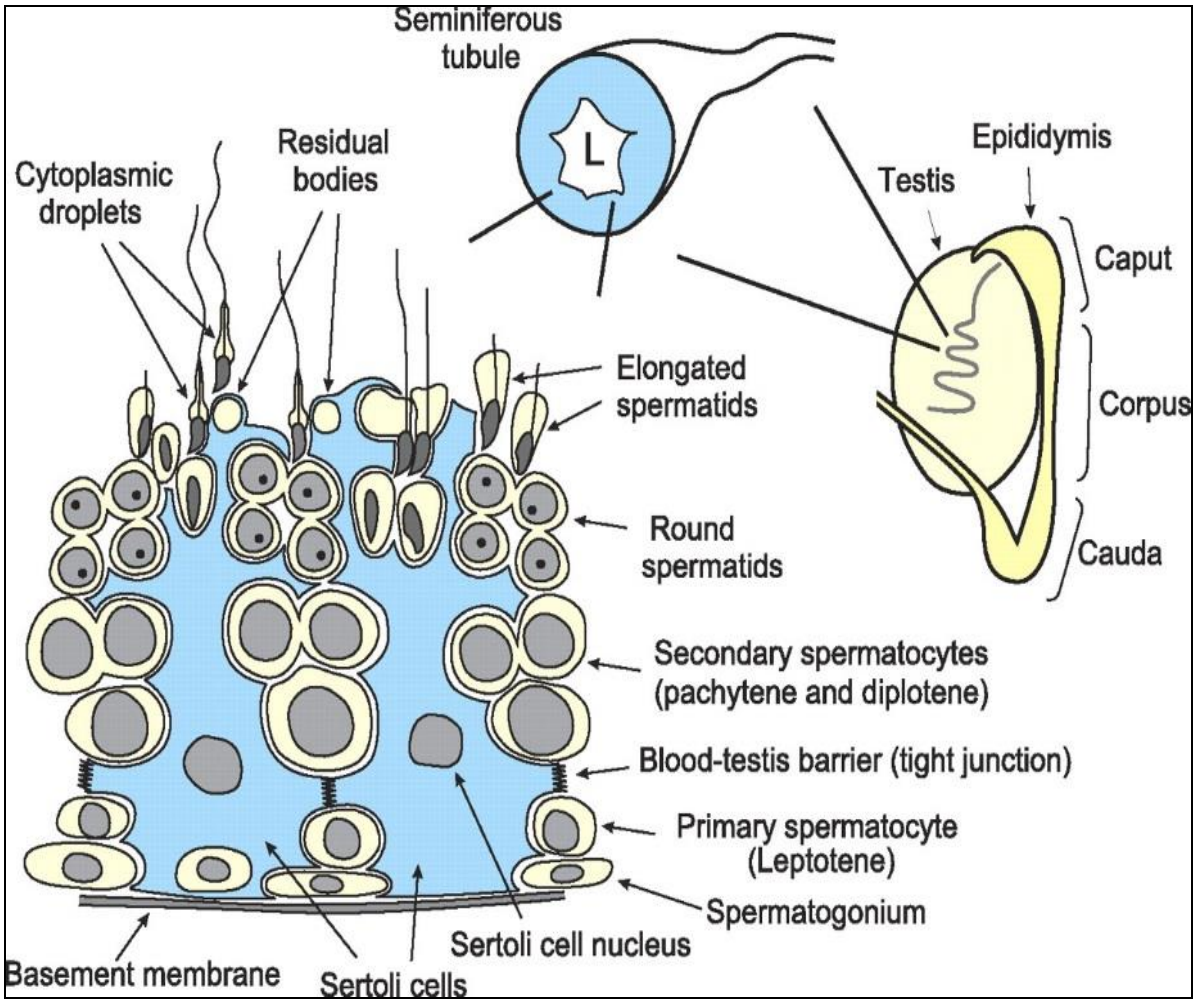
اسپرماتوژنز (Spermatogenesis) یک فرآیند بسیار هماهنگ شامل: تقسیمات سلولی و تمایز برای تولید سلول‌های زایای مردانه هاپلوئید از سلول‌های پیش ساز دیپلوئید است. اسپرماتوژنز پستانداران را می‌توان به مراحل قبل از میوز، میوز و پس از میوز تقسیم نمود. در مرحله قبل از میوز، اسپرماتوگونی دیپلوئید پس از تقسیم میتوز به اسپرماتوسیت اولیه تمایز می‌یابد. از طریق دو تقسیم میوز اسپرماتوسیت اولیه، چهار اسپرماتید گرد هاپلوئید را تولید و در مرحله پس از میوز، تغییرات مورفولوژیکی اسپرماتید گرد منجر به تولید اسپرماتید طویل و درنهایت اسپرماتوزوای بالغ می‌شود (۱) (تصویر شماره ۱). به‌علاوه مرگ طبیعی سلول زایا یا آپوپتوز نیز در اسپرماتوگونی ها طی این فرآیند رخ می دهد که نقش مهمی در تولید و بلوغ اسپرم در بیضه دارد. این فرآیند می‌تواند توسط فاکتورهای متعدد مانند مواد شیمیایی، گنادوتروپین یا تستسترون، گرما اشعه و غیره دچار تداخل گردد. افزایش سطح دمای بیضه باعث سرکوب

*نویسنده مسئول: اصفهان- پژوهشگاه رویان- پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی- مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل- گروه زیست فناوری پزشکی تولیدمثل- تلفن: ۰۹۱۳۳۱۴۳۴۳۱، E-mail: tavalaee.m@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

اسپرماتوژنز در گونه های مختلف پستانداران ازجمله انسان می‌شود (۲). این فرآیند ۳۵ روز در موش و ۷۵ روز در انسان طول می‌کشد و در طول زندگی جهت اطمینان از تأمین مداوم اسپرم در مردان ادامه می‌یابد. در حالی که سلول‌های اسپرم انسانی، بلوغ اپیدیدیمی خود را در حدود ۱۲ روز کامل می‌کنند. سد خونی- بیضوی (Blood-testis barrier) یکی از محدودترین موانع خونی بافتی در بدن پستانداران است. این ساختار ایجاد شده توسط اتصالات اختصاصی (اتصالات محکم، اکتوپلاسمیک پایه‌ای و اتصالات دسموزوم)، با محدود کردن جریان سلولی مواد از عرض سلول‌های سرتولی به قسمت رأسی، یک محیط مناسب برای تکوین اسپرماتیدهای پس میوزی در قسمت رأسی اپیتلیوم لوله منی ساز را فراهم می‌کند. این سد، اپیتلیوم لوله اسپرم ساز را به دو بخش بازال و اپیکال تقسیم می‌کند (۳).



تصویر شماره ۱: تصویری از مقطع لوله اسپرم‌ساز که ارتباط بین سلول‌های سرتولی و تکوین اسپرم را نشان می‌دهد. هم‌زمان با بلوغ اسپرم‌ها، آن‌ها به سمت حفره لوله اسپرم‌ساز پیشروی می‌کنند (٤)

سه رویداد اصلی که در بخش اپیکال در طول اسپرماتوسیتوژنز (Spermatocytogenesis) رخ می‌دهد، شامل: میوز I و II، اسپرمیوژنز و اسپرمیشن (Spermiation). پیشرفت اسپرماتوسیت اولیه از مراحل زیگوتن، پاکی تن و دیپلوتن، به اسپرماتوسیت ثانویه و سپس اسپرماتید هاپلوئید، رشد اسپرماتید گرد اولیه به اسپرماتید طویل و به دنبال آن تحت فرآیند اسپرمیوژنز به شکل اسپرم با کروماتین کاملاً فشرده تمایز می‌یابند و

www.SID.ir

Archive of SID

درنهایت اسپرمیشن (بلوغ و متعاقب آن آزادسازی اسپرماتوزوآ به لومن لوله‌های اسپرم ساز) رخ می‌دهد. ولی تجدید اسپرماتوگونی و تمایز و پیشرفت چرخه سلولی تا مرحله پری لپتوتن اسپرماتوسیت خارج از BTB و در بخش بازال اپیتلیوم انجام می‌شود (۳).

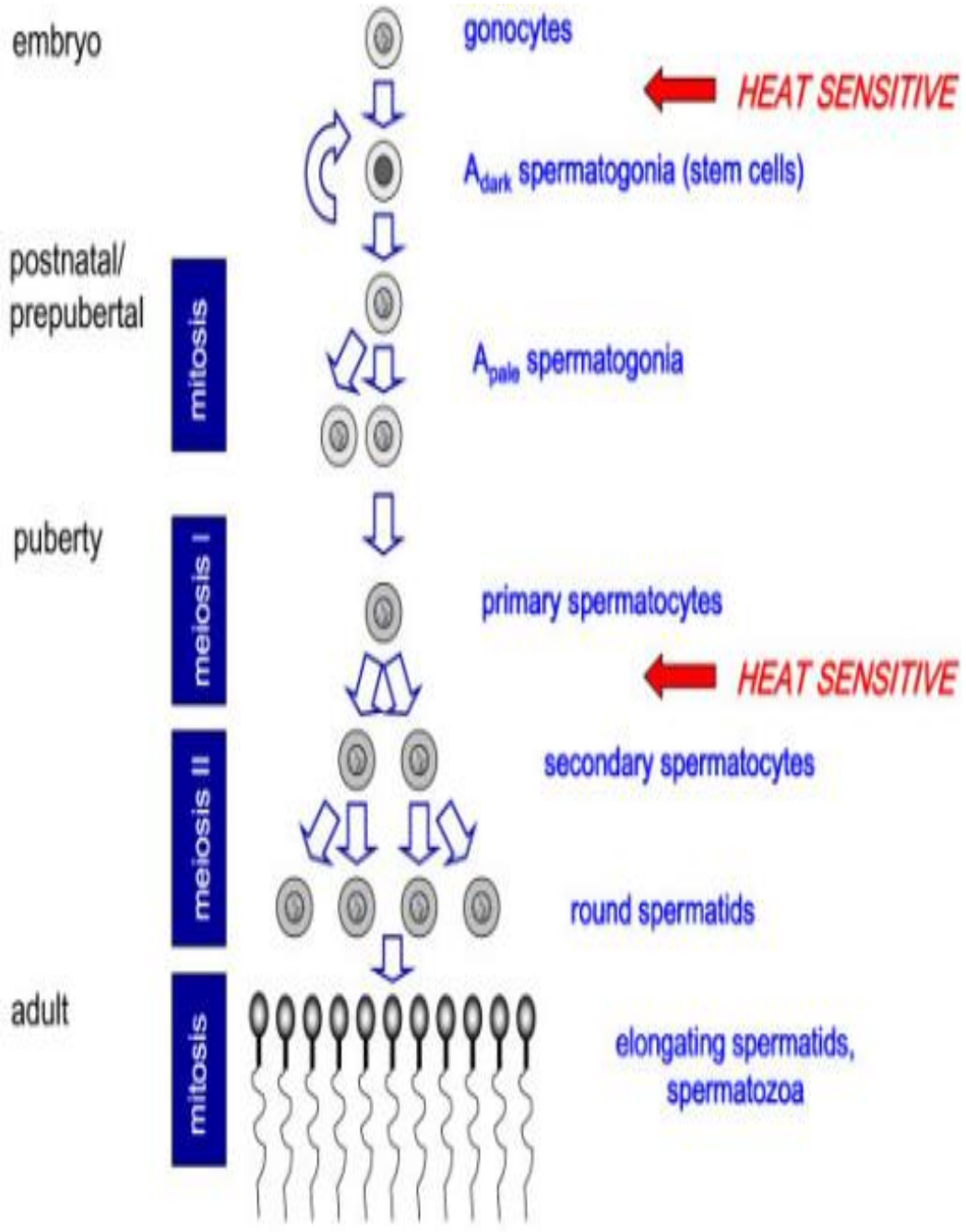
در بیشتر پستانداران، بیضه که در آن فرآیند اسپرماتوژنز رخ می‌دهد، در کیسه بیضه (Scrotum) و خارج حفره بدن قرار دارد. اگر بیضه در طی تکوین نتواند به داخل کیسه بیضه نزول یابد، در معرض دمای بالا و از دست دادن سلول‌های جنسی قرار خواهد گرفت (۵). در حالت طبیعی دمای بیضه‌ای در اسکروتوم ۱ تا ۲ درجه سانتی‌گراد از دمای داخلی بدن کمتر بوده و افزایش دمای بیضه‌ای می‌تواند بر روی فرآیند اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد. با این وجود تغییرات اخیر در سبک زندگی باعث شده است که بیضه بیشتر در معرض گرما قرار گیرد. قرار گرفتن در معرض محیط شغلی گرم (نانوا، جوشکار، کارگران ریخته‌گری)، عادات کاری بدون تحرک، سفر در ماشین برای مدت طولانی، پوشیدن لباس‌های تنگ، همه این عوامل می‌توانند تنظیم دمای داخل کیسه بیضه را مختل کنند و منجر به افزایش دمای بیضه شود (۷،۶). تنظیم حرارت بیضه توسط چند ویژگی کیسه بیضه، مانند پوست نازک با حداقل چربی زیرپوستی، غدد عرق متراکم و توزیع موی اندک انجام می‌شود. همچنین عضلات و عروق خونی در ناحیه تناسلی نقش مهمی در تنظیم درجه حرارت بیضه ایفا می‌کند. برای به حداکثر رساندن از دست دادن حرارت، دو ماهیچه عضله کرماستر (Cremaster muscle) که بیضه و طناب اسپرماتیک را احاطه کرده و عضله تونیکا دارتوس (Tunica dartos) که در زیرپوست کیسه بیضه قرار گرفته است، موقعیت کیسه بیضه، نسبت به بدن را تنظیم می‌کنند. علاوه بر این، اتساع عروق بیضه و فعال شدن غدد عرق باعث از دست دادن حرارت در زمان افزایش درجه حرارت بیضه می‌شود. بیضه همچنین از طریق مکانیسم counter-current دمای بیضه را تنظیم می‌کند. شریان و ورید بیضه‌ای انتقال حرارت از خون گرم ورودی شریان به خون سرد خروجی ورید را تسهیل می‌کنند. این تبادل حرارت تضمین می‌کند که خون سرد، وارد بیضه شده، در حالی که حرارت خون گرم شده ورید از طرق پوست نازک کیسه بیضه منتشر خواهد شد (۱).

پژوهشگران بر این باورند که تکوین کیسه بیضه به دلیل نیاز به دماهای پایین جهت، اسپرماتوژنز، ذخیره‌سازی اسپرم یا به حداقل رساندن جهش در DNA سلول‌های زایا می‌باشد (۹،۸). صرف نظر از دلیل تکاملی برای محل بیضه و اپیدیدیم در خارج از بدن، افزایش دما در بیضه در پستانداران با بیضه خارجی منجر به کاهش خروجی اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و افزایش نسبت اسپرماتوزوآ با مورفولوژی غیرطبیعی در مایع انزالی می‌گردد. چنین اثراتی را می‌توان زمانی که یک منبع حرارتی موضعی با بیضه در تماس است، ازجمله: کیسه بیضه عایق شده، بیضه درون حفره بدن (همانند کریپتورکیدیسم) یا افزایش درجه حرارت بدن به علت تب و یا محیط‌های حرارتی مشاهده نمود. سلول‌های رده زایا که بیشتر مستعد این آسیب‌ها در بیضه هستند شامل: اسپرماتوسیت و اسپرماتید بوده، اگرچه اسپرماتوگونی های B نیز می‌توانند دچار آسیب شوند (۱۰) (تصویر شماره ۲). حرارت، یا به دلایل درونی (مانند تب بالا) و یا محرک‌های بیرونی، باعث کاهش غلظت اسپرم، اختلال در تحرک و کاهش تعداد اسپرم با مورفولوژی طبیعی می‌شود (۱۱). گزارشات بر روی ارتباط سلامت شغلی مردان و باروری نشان داد که افزایش درجه حرارت بیضه ناشی از کریپتورکیدیسم، گرمای شدید در تابستان، تب بدن، لباس تنگ، سونا و یا قرار گرفتن در معرض دمای بالا در طول مواجهه شغلی می‌تواند باعث اختلال در اسپرماتوژنز شود (۱۲). مطالعات Shefi و همکاران نشان داد که کاهش کیفیت مایع منی به علت اثر سمی افزایش گرما (Hyperthermia) ممکن است در برخی از مردان نابارور، برگشت‌پذیر باشد (۱۳). گزارشات زیادی در مورد سلامت باروری

www.SID.ir

Archive of SID

کارگران مواجه با درجه حرارت بالا وجود دارد، به طور مثال، محققان، شیوع بالای از اسپرم‌های پاتولوژیکی را در میان کارگران صنعت سرامیک مشاهده کردند (۱۲). همچنین گزارشات زیادی حاکی از آن است که جوشکاری ممکن است باعث یکسری اثرات سوء بر تحرک، مورفولوژی و عملکرد فیزیولوژیک اسپرم داشته باشد، حتی اگر غلظت اسپرم در محدوده طبیعی باشد (۱۴).



تصویر شماره ۲: روند اسپرماتوژنز و مراحل حساس به حرارت در انسان

اینکه چگونه یک مقدار کم افزایش حرارت، قادر به القای آپوپتوز است، هنوز مبهم است. در بزرگسالان هر دو سلول زایا و سرتولی نسبت به حرارت واکنش نشان می‌دهند که شامل: تغییر بیان پروتئین هایی مثل تغییر بیان پروتئین شوک حرارتی می باشد (۱۵).

www.SID.ir

Archive of SID

روش بررسی:

به منظور 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 واژه های اسپرم، استرس گرمایی، ناباروری، مرگ سلولی، آپوپتوز، اتوفاژی، آسیب DNA و اسپرماتوژنز صورت گرفت. بازه زمانی مقالات استخراج شده و مورد استفاده بین سال های ۱۹۹۷ الی ۲۰۱۶ بود.

یافته ها:

دو آسیب رایج در رابطه با گرمای بیضه‌ای وجود دارد؛ کریپتورکیدیسم و واریکوسل. در کریپتورکریدیسم، به دلایل متفاوت، یک یا هر دو بیضه ممکن است به جای نزول به داخل کیسه بیضه، درون حفره شکمی یا کانال مغابنی باقی بمانند که این نزول در انسان معمولاً در زمان تولد اتفاق می‌افتد (۱۶). عوارض کریپتوریدیسم به خوبی ثابت شده است. اختلال در نزول بیضه در دوران کودکی منجر به کاهش عملکرد بیضه، به خصوص کاهش تولید اسپرم در سن بلوغ و ناباروری می‌شود (۱۸،۱۷).

در مطالعات قبلی، تأثیر کریپتورکیدیسم بر روند اسپرماتوژنز در دوره نوزادی و دوران قبل از بلوغ بی اثر در نظر گرفته می‌شد، به طوری که جراحی اصلاح بیضه شکمی یا ارکیدوپکسی (Orchidopexy) برای هر سنی قبل از شروع بلوغ و شروع روند اسپرماتوژنز کارآمد به نظر می‌آمد، ولی مشاهدات اخیر نشان می‌دهد که این نظریه نادرست است و دمای حفره شکمی می‌تواند به طور قابل توجهی تعدادی از سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی مورد نیاز برای تولید تمام اسپرم در زندگی آینده را قبل از بلوغ تحت تأثیر قرار دهند. به نظر می‌رسد که یک رابطه معکوس بین تعداد سلول‌های بنیادی سلول‌های زایا در بیوپسی بیضه و سنی که در آن ارکیدوپکسی انجام شده، وجود دارد (۱۹،۱۵). پس از تولد، هر چه بیضه زودتر داخل کیسه بیضه جای بگیرد، شانس اسپرماتوژنز کامل در یک بزرگسال بهتر است. واریکوسل به علت اتساع واریسی تعداد زیادی از عروق خون وریدی که درون کیسه بیضه قرار دارد، می‌باشد که معمولاً با افزایش جریان خون در ارتباط است. یکی از عواقب فیزیولوژیکی آن، علاوه بر افزایش استرس اکسیداتیو (Oxidative stress)، افزایش درجه حرارت موضعی بیضه و درنتیجه اختلال در اسپرماتوژنز می‌باشد (۱۵). عدم تنظیم حرارت کیسه بیضه باعث افزایش دمای بیضه شده که منجر به استرس حرارتی تناسلی می‌شود. این اختلال برای اسپرماتوژنز زیان آور است و نتیجه آن کاهش کیفیت اسپرم می‌باشد (۲۰).

مطالعات پیشین اذعان داشته‌اند که پارامترهای اسپرمی ازجمله غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل به شدت تحت تأثیر بوده و با کاهش کیفیت این پارامترها نسبت به افراد بارور مواجه هستند (۲۱). به‌علاوه سطح آسیب DNA اسپرم و استرس اکسیداتیو در این افراد نابارور به طور معنی‌داری بالاتر از افراد بارور بوده است (۲۲). در این راستا مطالعات نشان داده‌اند که عمل واریکوسلکتومی (Varicocelectomy) می‌تواند به‌طور معنی‌داری باعث بهبود پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA در افراد مبتلا به واریکوسل شود (۲۳). همچنین نتایج Tavalaee و همکاران نشان دادند که غلظت اسپرم، قطعه قطعه شدن DNA، نقص پروتامین و استرس اکسیداتیو، پس از عمل واریکوسلکتومی، به طور معنی‌داری بهبود می‌یابد (۲۴). اسپرم‌های اپیدیدیمی و سلول‌های زایای بیضه‌ای به استرس گرمایی حساس هستند (۲۰). اسپرماتوزوآی حاصل از سلول‌های اسپرمی موش‌های در معرض دمای بالا، دستخوش آپوپتوز شده و دارای DNA آسیب دیده هستند که این امر، منجر به کاهش ظرفیت لقاح در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی شده است (۲۷-۲۵).

www.SID.ir

Archive of SID

از دست دادن سلول‌های زایا توسط آپوپتوز پس از استرس گرمایی بیضه، ممکن است از طریق مسیر داخلی (Intrinsic) یا بیرونی (Extrinsic) رخ می‌دهد. حوادث یا مارکرهای مولکولی که در سلول‌های زایای در معرض تنش گرمایی به وجود می‌آیند عبارت‌اند از Bax (پروآپوپتوز)، Bcl-2 (ضد آپوپتوز)، سیتوکروم C، کاسپازها و دیگر فاکتورهای القا شده توسط حرارت (۲۸). شدت آسیب به سلول‌های اسپرم در معرض استرس گرمایی با شدت، فرکانس و مدت زمان قرار گرفتن در معرض حرارت متفاوت است (۲۹). میزان آپوپتوز در سلول زایا نیز، تحت تأثیر شدت و مدت تنش گرما قرار می‌گیرد (۲۸).

Kong و همکاران، بیان Cdc2 و cyclin B1 (مؤلفه‌های کلیدی از کنترل چرخه سلولی که تصور می‌شود نقش اساسی در گامتوژنز را ایفا می‌کند) در بیضه طبیعی و کریپتورکیدیسم را مطالعه کردند و مشاهده کردند که دمای شکم تأثیر قابل توجهی در رونویسی Cdc2 و cyclin B1 در اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت اولیه (پاکی تن- دیپلوتن) نداشته است، ولی باعث مسدود کردن ترجمه آن می‌شود (۳۰). بر اساس مطالعات تجربی، گزارش شده است که افزایش در دمای شکمی خطر آپوپتوز در سلول های زایای اسپرم را افزایش می دهد، اما مکانیسم آن همچنان ناشناخته است (۱۲). این نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض گرما باعث ایجاد پاسخ هیپوکسی و استرس اکسیداتیو در سلول‌های زایا شده و با اعمال آشکار افزایش بیان فاکتور A1 عامل القایی هیپوکسی (Hypoxia)، همی اکسیژناز ۱ (Haem oxygenase 1)، گلوتاتیون پراکسیداز ۱ (Glutathione peroxidase 1) و گلوتاتیون- اس- ترنسفراز- A (Gluta-thione-S-transferase-a) که سلول‌های زایا را به سمت آپوپتوز هدایت می‌کنند، همراه است (۳۱). اثرات سوء گرمای کیسه بیضه درروند اسپرماتوژنز و باروری، در پستانداران غیرانسانی به همان اندازه آشکار هستند (۳۲).

حفظ اختلاف دما بین بدن و بیضه، جهت تضمین تولید اسپرم طبیعی، حیاتی است. با این حال، در زندگی روزمره، بسیاری از عوامل داخلی و خارجی می‌تواند این اختلاف درجه حرارت را کم کند، به موجب آن، خطر اسپرماتوژنزیس غیرطبیعی و تغییرات آن با قرار گرفتن در معرض حرارت بیضه مربوط می‌شود. این عوامل مولد حرارت را می‌توان، به شیوه زندگی و رفتاری، عوامل شغلی و زیست محیطی (عوامل خارجی) و عوامل بالینی ناشی از شرایط پاتوفیزیولوژیک (عوامل داخلی) گروه بندی کرد (۱).

شیوه زندگی و رفتاری مسئول استرس گرمایی بیضه؛ طرز لباس پوشیدن، استفاده از حمام های داغ و سونا، استفاده از لپ تاپ، دوچرخه سواری و چاقی، نتیجه عادات و شیوه هایی هستند که می‌توانند با تلاش های آگاهانه قابل تغییر باشند (۳۶،۱۳-۳۳). همچنین شغل‌هایی که افراد در معرض حرارت قرار دارند، به خصوص اینکه تا بخش قابل توجهی از روز ادامه داشته باشد و همچنین دمای بالای محیطی که مرد در آن زندگی می‌کند می‌تواند از عوامل مسئول استرس گرمایی در مردان باشد.

افزایش دمای بیضه، ناشی از اختلال پاتولوژیک تنظیم حرارت می‌تواند اثرات سوء بر روند اسپرماتوژنز تحمیل کند. این اختلالات شامل: کریپتورکیدیسم و واریکوسل بوده که نتیجه افزایش دمای بیضه می‌باشد و ممکن است منجر به از دست دادن باروری در مردان شود (۱).

بحث:

سلول های زایا به دلیل فعالیت میتوزی بالا، بیشتر در معرض استرس گرمایی هستند (۳۷). در بین سلول های زایا، انواعی که بیشتر در برابر حرارت آسیب پذیر هستند شامل: اسپرماتوسیت (pachytene و diplotene) و اسپرماتید گرد اولیه در انسان و موش صحرایی می باشد (۳۹،۳۸،۱۱). مکانیسم های اساسی

www.SID.ir

Archive of SID

که با آن سلول های جنسی آسیب را متحمل می شوند عبارت اند از: آپوپتوز و اتوفاژی سلول زایا، آسیب DNA به دلیل توقف سیناپسیس (Synapsis) و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (۱،۲،۳۲،۳۹،۴۰).

اسپرم‌های اپیدیدمی در معرض گرما قرار گرفته متفاوت از سلول‌های زایا تحت تأثیر قرار می‌گیرد. بررسی‌ها بر روی موش‌هایی که به مدت ۱۲ ساعت در دو روز پی در پی در معرض حرارت ۳۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، در مقایسه با گروه کنترل، تعداد اسپرم کمتر، وزن بیضه پایین‌تر، کاهش ظرفیت لقاح اسپرم در داخل بدن و تولید موش‌هایی با اندازه‌های کوچک‌تر را نشان داد. اسپرم اپیدیدیمی موش حرارت دیده دارای خاصیت اتصال کمتر به لایه زونا پلوسیدا و ظرفیت نفوذ کمتر به تخمک می‌باشد. این اثرات ابتدا در ۱ هفته پس از قرار گرفتن در معرض گرما دیده می‌شد و در ۲ هفته پس‌ازآن برجسته‌تر شد (۲۷). در مطالعه ای دیگر، اسپرم به دست آمده از دم اپیدیدیم موش در معرض حرارت (۳۷ تا ۳۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت در ۳ روز متوالی) دارای تعداد مشابه اما تحرک پایین‌تر بود. همچنین این اسپرم‌های اپیدیدیمی تغییرات غشایی را نشان می‌دهند که آن‌ها را بیشتر مستعد آپوپتوز خواهد کرد (۴۱).

مدت کوتاهی پس از قرار دادن بیضه در معرض گرما، از دست دادن وزن بیضه رخ می دهد. این کاهش در وزن بیضه می‌تواند منسوب به از دست دادن سلول‌های زایا توسط آپوپتوز باشد. اگرچه وزن بیضه ممکن است تا چند هفته پس از قرار گرفتن در معرض گرما در موش بازگردد، با این حالا وزن بیضه کمتر از قبل خواهد ماند (۴۲). بیضه با گذشت زمان از تنش گرما بهبود می‌یابد. با این حال، اسکار می‌تواند آنقدر عمیق باشد که به طور کامل بهبود نیابد. بیضه وزن خود را پس از قرار گرفتن در معرض گرما از دست می‌دهد و پس از آن وزن خود را در حدود ۴۰ روز بعد به دست آورد، اما وزن حتی با گذشت ۶۰ روز یا بیشتر نمی‌تواند به حالت طبیعی خود بازگردد (۵). در یک مطالعه با مشاهدات طولانی، وزن بیضه ۹۷ روز پس از مواجهه با گرمابه ۷۰٪ وزن کنترل بازگشت، ولی پس از گذشت ۱۸۲ روز، وزن بیضه ۵۰٪ کاهش را نشان داد (۴۳). کاهش اولیه در وزن بیضه پس از تنش گرما را می‌توان تا حد زیادی به آپوپتوز سلول‌های زایای حساس به حرارت نسبت داد. با این حال، وجود یک سقوط دوم در وزن بیضه پس از حرارت این احتمال را نشان می‌دهد که گرما نیز بر تمایز و رشد اسپرماتوگونی توسط مکانیسم های نامعلوم تأثیر می‌گذارد (۴۲،۴۳). تلقیح مصنوعی خرگوش با اسپرم در معرض حرارت بالا در آزمایشگاه و یا در دستگاه تناسلی جنس ماده منجر به کاهش بقا پیش از لانه گزینی و در یک مطالعه پس از لانه گزینی شد. استرس گرمایی شدید همچنین می‌تواند ترشح LH در مردان را به خطر بیاندازد (۱۰). به علاوه مطالعات Mete و همکاران نشان داد که تستوسترون داخل بیضوی، نقش محوری در محافظت از سلول‌های زایا مقابل مرگ سلولی ناشی از حرارت را ایفا می‌کند؛ بنابراین، بیضه موش صحرایی در دوران قبل از بلوغ، به علت عدم اثرات محافظتی هورمون تستوسترون، ممکن است بیشتر تحت تأثیر اثرات افزایش دما قرار گیرد (۴۴). با این حال واضح است که هدف اصلی اختلال در عملکرد تولید مثلی، سلول‌های زایای اسپرم در بیضه می‌باشد (۱۰).

آزمایش‌های میکروسکوپی در بیضه موش صحرایی پس از قرار گرفتن در معرض گرما، هضم میتوکندری، اتساع شبکه آندوپلاسمی صاف و فضاهای گسترده در هر دو سلول سرتولی و اسپرماتید را نشان می‌دهد (۴۵). سلول‌های سوماتیک بیضه موش مانند سلول‌های سرتولی و سلول‌های لیدیگ نیز تحت تأثیر استرس گرمایی قرار گرفته و نقش محافظتی خود را در رشد یا تکوین سلول‌های زایا از دست خواهد داد (۴۶،۴۷). سلول زایای مردانه، تنها نوع سلول متأثر از گرما نیست، بلکه سلول‌های سوماتیک بیضه، به ویژه، سلول‌های سرتولی و لیدیگ، نسبت به استرس گرمایی واکنش نشان می‌دهند. عملکرد اصلی سلول‌های سرتولی

www.SID.ir

Archive of SID

و لیدیگ، به ترتیب حمایت از سلول‌های ژرمینال و تنظیم استروئیدوژنز بوده، جهت تأمین شرایط مناسب توسعه سلول‌های جنسی می‌باشد. هرگونه تغییر در عملکرد این سلول‌ها ممکن است بر توسعه سلول‌های زایا مردان مؤثر باشد. کاهش تولید پروتئین متصل به آندروژن بیضه بعد از القای تجربی کریپتورکیدیسم نشان می‌دهد که گرما دارای یک اثر منفی بر سلول‌های سرتولی می‌باشد (۵). نتایج اخیر نشان داده است که بیان برخی از مولکول‌های درگیر در عملکرد سلول‌های سرتولی توسط شرایط گرمازدگی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۴۸،۴۶)، به‌عنوان نمونه، سیتوکراتین (CK) نوعی فیلامنت بینابینی است که به عنوان یک مارکر تمایز سلول سرتولی، فقط در سلول‌های سرتولی نابالغ بیان و به طور معمول در سن بلوغ از بین می‌رود. از طرفی Ck-18 یک زیر گروه از خانواده سیتوکراتین است که یک نشانگر عالی از سلول‌های سرتولی نابالغ و یا تمایز نیافته در اپیتلیوم اسپرم‌ساز است. مطالعات Zhang و همکاران نشان داد که در بیضه میمون رزوس (Rhesus) مبتلا به کریپتورکیدیسم، بیان CK-18 و دیگر فیلامنت های بینابینی در سلول‌های سرتولی مشاهده شد که این امر مصادف با توقف فعالیت اسپرماتوژنز بود، بنابراین درجه حرارت بدن توانایی القای بازگشت سلول‌های سرتولی بالغ به مرحله نابالغ را داشته و درنتیجه این سلول‌ها نقش حمایتی خود را در روند اسپرماتوژنز طبیعی از دست می‌دهند (۴۹).

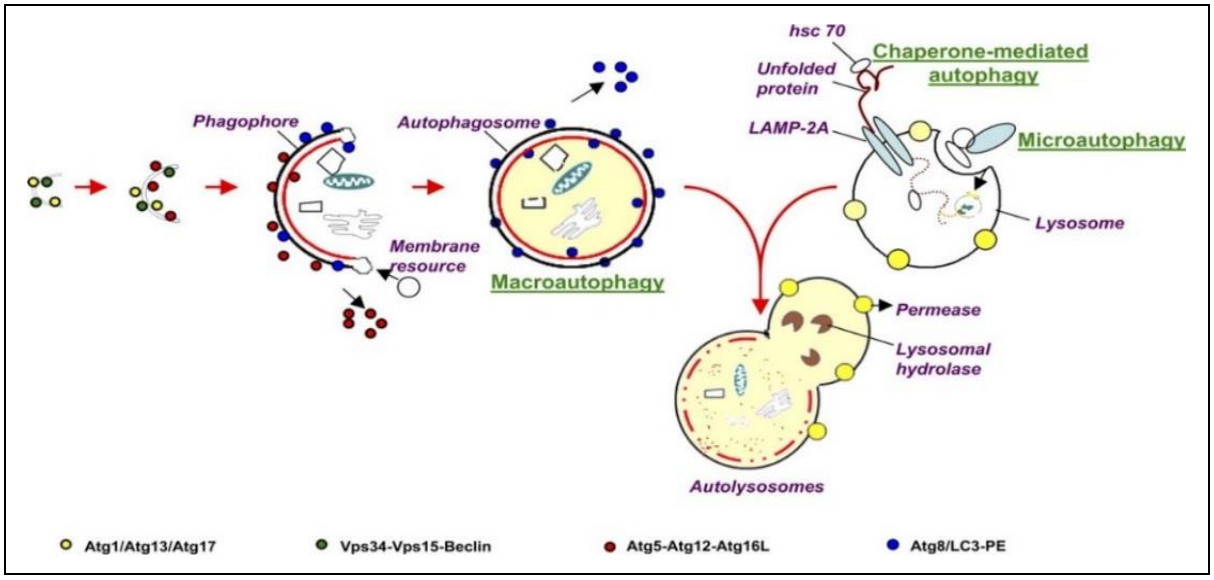
در مقابل، اعتقاد بر این بود که سلول‌های لیدیگ تحت تأثیر گرما قرار نمی‌گیرند (۵۰). با این حال، تغییر مورفولوژی سلول‌های لیدیگ در بیضه موش، پس از ۶ روز متوالی مواجه با دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه مشاهده شد (۵۱،۴۷)؛ بنابراین، این امکان وجود دارد که گرما به‌طور غیرمستقیم، با تغییر عملکرد سلول‌های سوماتیک، به سلول‌های جنسی آسیب می‌رساند (۵). همچنین افزایش درجه حرارت با افزایش میزان تمایز اسپرماتوسیت و پیشرفت اسپرماتوژنز گزارش شده است. چرخه کاهش اسپرماتوژنز ممکن است به اختلال در سلول‌های زایای اسپرم منجر شود. با این حال، هنوز نقش حرارت در تعدیل زمان سیکل اسپرماتوژنیک ناشناخته است.

مطالعات متعدد (به‌طور عمده با استفاده از مدل کریپتورکیدیسم) جنبه‌های مولکولی آپوپتوز سلول‌های زایا پس از تنش گرما را بررسی کرده‌اند، در این بخش به شرح این یافته‌ها پرداخته خواهد شد.

اتوفاژی، معمولاً به عنوان مرگ سلولی برنامه ریزی شده نوع II توصیف شده و همچنین می‌تواند مسئول مرگ سلول زایا باشد (۴۰). اتوفاژی فرآیندی است که در آن سلول خودش اجزای خود را هضم می‌کند. این فرآیند نه تنها مواد مغذی را برای حفظ عملکردهای حیاتی سلول در طی فقر غذایی فراهم می‌کند، بلکه همچنین می‌تواند سلول را از اندامک‌های اضافی و زاید و یا آسیب دیده، پروتئین‌های به اشتباه تاخورده و میکروارگانیسم های مضر رهایی بخشد (۵۲). اتوفاژی می تواند در سلول‌ها تحت موقعیت‌های استرس زای متفاوتی مانند آسیب ایسکمی، استرس اکسیداتیو، استرس شبکه ی اندوپلاسمی، فقدان فاکتور رشد، استرس گرمایی و غیره فعال شود (۲). سه فرم اصلی اتوفاژی معرفی شده است: اتوفاژی به واسطه‌ی چاپرون (Chaperon)، میکرواتوفاژی (Micro-autophagy) و ماکرواتوفاژی (Macro-autophagy) (تصویر شماره ۳)؛ که هر سه علیرغم تفاوت در مسیر انتقال مواد به لیزوزوم در مراحل اصلی و پایانی تجزیه لیزوزومی پروتئین ها به وسیله‌ی هیدرولازها مشابه می باشند (۵۳). در زمان فعال شدن این مسیر، شکل سیتوزولی زنجیره سبک ۳ (LC3B-I) به شکل متصل به غشا (LC3B-II) تغییر یافته و همچنین سیستم کونژوگه شبه یوبیکوئیتین فعال می‌شود. تشکیل LC3B-II، باعث رشد مناسب اتوفاگوزوم ها و شکل گیری اتوفاگوزوم ها توسط سیستم کونژوگه شبه یوبیکوئیتین، هر دو نشانگر فرآیند اتوفاژی در نظر گرفته می‌شوند (۲) Zhang و همکاران نشان دادند که گرما، اتوفاژی و آپوپتوز را در سلول های زایا فعال می کند و این دو به عنوان همکار برای القا مرگ سلول عمل می کنند و باعث تخریب اسپرماتوژنز می شوند (۲).

www.SID.ir

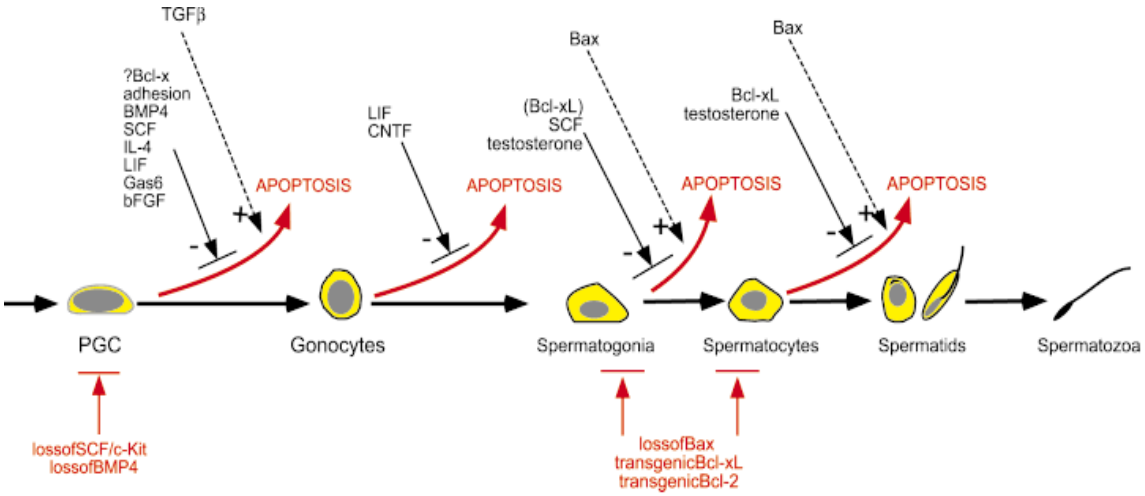
Archive of SID



تصویر شماره ۳: انواع اتوفاژی

سه نوع مختلف اتوفاژی شامل ماکرواتوفاژی، میکرواتوفاژی و اتوفاژی به واسطه چاپرون (CMA) شناسایی شده‌اند که با توجه به عملکردهای فیزیولوژیکی آن‌ها و نحوه تحویل محموله به لیزوزوم متفاوت هستند (۵٤).

فرآیند آپوپتوز سلول زایا با نام مرگ برنامه ریزی شده نوع I نیز شناخته می‌شود. Sakkas و همکاران، یک تئوری درباره ی نحوه ی ایجاد آسیب DNA اسپرم انسان، تحت نظریه «فرار از آپوپتوز» (Abortive apoptosis) ارائه کرد. طبق این نظریه اسپرم هایی که باید در روند مرگ سلولی حذف شوند، از این روند خارج و به‌صورت ناقص دستخوش فرآیند آپوپتوز شده و درنهایت همراه دیگر اسپرم ها در مایع منی حضور دارند (۵۵) (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۴: فرآیند آپوپتوز

به طور طبیعی تکوین سلول های گناد و اولین مرحله از اسپرماتوژنز توسط آپوپتوز شدید همراه است؛ سیگنال های تنظیم کننده آپوپتوز سلول های زایا توسط فلش سیاه رنگ و تأثیر آن ها با علامت "+" به عنوان پیش برنده آپوپتوز و علامت "–" به عنوان ممانعت کننده آپوپتوز نشان داده شده است. تغییرات ژنتیکی که در تنظیم آپوپتوز دخالت دارند، با فلش قرمزرنگ در زیر انواع سلول های تحت تأثیر رسم شده است (۵٦).

www.SID.ir

Archive of SID

در بسیاری از آزمایش های القاکننده کریپتورکیدیسم در بیضه حیوانات، افزایش آپوپتوز در سلول های زایا دیده شده است که احتمالاً منجر به آسیب DNA می‌شود و باعث کاهش وزن بیضه و مشکلات ناباروری در می‌گردد (۵۷). در طول رشد سلول‌های زایا، آپوپتوز فیزیولوژیکی جهت انتخاب طبیعی سلول‌های زایای کارا ضروری می‌باشد (۵۸).

محققان بسیاری نشان داده اند که افزایش طولانی مدت دمای کیسه ی بیضه فقط برای ۵ °C ۱-۵ می تواند باعث القا آپوپتوز در سلول های زایا و کاهش اندازه ی بیضه شود که منجر به پایین آمدن تولید اسپرم و مورفولوژی تغییر شکل یافته اسپرم می شود (۵۹). آپوپتوز با کنترل تعداد سلول ها زایا، نقش محوری را در بیضه ایفا می کند. درواقع، بیش از ۵۰٪ سلول‌های زایای در طول فرآیند اسپرماتوژنز درنهایت دچار آپوپتوز خواهند شد. این فرآیند، بسیار دقیق و محدود به سلول های زایای لوله های اسپرم ساز است (۶۰). علاوه بر آن، گرما ممکن است ماهیت پل های سیتوپلاسمی لازم برای بقای سلول را تغییر و بر ترکیب مایعات موجود در دم اپیدیدیم اثر گذاشته که مانع بلوغ مناسب اسپرم شده و درنتیجه به افزایش آپوپتوز هم در موش و هم انسان کمک خواهد کرد (۶۲،۶۱).

افزایش دما و به دنبال آن، افزایش بیان یوبیکوئیتن و اعضای خانواده پروتئین شوک حرارتی (Heat shock proteins) در موش، نشان دهنده آن است که اثر پایین دست ممکن است در تمام موجودات فراگیر باشد (۶۳). HSPA2 اختصاصی بیضه یک عضو از خانواده HSP70 است. این چاپرون مولکولی در طی میوز اسپرماتوسیت، به عنوان یک جزء از کمپلکس سیناپتونمی و در طول مرحله بلوغ اسپرمیوژنز حضور دارد (۶۰). از سوی دیگر، به عنوان بخشی از یک مکانیسم حفاظتی ذاتی در طی تکامل، سلول ها به استرس گرمایی از طریق توقف سنتز بیشتر پروتئین ها و انحراف تمام منابع موجود برای تولید القایی پاسخ می دهند (۶۵،۶۴). این پروتئین ها به منظور انجام وظایف خود به طور مؤثر، تمایل به تشکیل الیگومر دارند (۶۶). آن ها با اتصال به پروتئین ها و جلوگیری از تغییر ماهیت و پیچ خوردگی نادرست آن ها، سلول ها را از استرس گرمایی محافظت می کند. میزان القا، به شدت و مدت قرار گرفتن در معرض حرارت وابسته است و هرچه درجه حرارت، بالاتر و مدت زمان قرار گرفتن در معرض حرارت، بیشتر باشد، مقدار بیشتری از پروتئین های شوک حرارتی برای محافظت از سلول ها تولید می شود. به دلیل عملکرد مهم آن در تداوم تجمع و انتقال صحیح پروتئین ها و همچنین حفاظت از سلول در برابر تنش های خارجی، پروتئین های شوک حرارتی برای رشد اسپرماتوسیت به اسپرم بالغ سالم ضروری است (۱). وجود این پروتئین با بلوغ، عملکرد و باروری اسپرم ارتباط دارد. کاهش یا عدم بیان این پروتئین در مرحله میوز با نقص های میوزی، مانند آنوپلوییدی (اغلب دیزومی ها)، الیگوزواسپرمی (تعداد پایین اسپرم) و آزواسپرمی (عدم اسپرم در انزال) همراه خواهد بود. هرگونه نقص در بیان این پروتئین در فاز نهایی اسپرمیوژنز، منجر به آسیب DNA شده و به دلیل عدم حذف سیتوپلاسمی، ایجاد مورفولوژی نامناسب این پروتئین، اتصال به تخمک و لقاح دچار شکست می‌شود (۶۷).

در طول اسپرمیوژنز، دو فرآیند دفع بقایای سیتوپلاسمی و بازسازی غشای پلاسما که باعث تسهیل شکل‌گیری سایت‌های متصل شونده به لایه زونا پلوسیدا می‌شوند، ممکن است توسط HSPA2 محافظت شوند؛ بنابراین در اسپرم نابالغ انسان که موفق به بیان HspA2 نشده است، احتباس سیتوپلاسمی و عدم توانایی اتصال به لایه زونا پلوسیدا وجود دارد (۶۸). Lima و همکاران برای نخستین بار میزان بیان ژن HSPA2 را در اسپرماتوزوای نوجوانان و ارتباط آن با بیماری واریکوسل را گزارش کرد. این مطالعه نشان داد که سطح بیان ژن HSPA2 در اسپرم نوجوانان مبتلا به واریکوسل و الیگوزواسپرمی به طور قابل توجهی

www.SID.ir

Archive of SID

پایین‌تر از سطح بیان ژن در نوجوانان سالم و نوجوانان مبتلا به واریکوسل با غلظت طبیعی اسپرم می‌باشد (۶۹).

گزارشات Motiei و همکاران، حاکی از آن است که سطح بیان این پروتئین به طور قابل توجهی به دنبال فرآیند ظرفیت یابی اسپرم در هر دو افراد بارور و نابارور افزایش می‌یابد؛ بنابراین، بیان نابجا HSPA2 ممکن است نقش مهمی در فرآیندهای ظرفیت یابی و لقاح ایفا کند (۷۰). مطالعات Afiyani و همکاران، ارزیابی پروتئین HSPA2 در مدل رت های واریکوسل با هدف شناخت مکانیسم مولکولی تأثیر استرس گرمایی بر اسپرماتوژنز، نشان داد که تولید این پروتئین در بیضه آسیب دیده موش‌های واریکوسل کاهش می‌یابد (۶۰). نتایج آزمایش‌ها نشان دهنده کاهش بیان نسبی HSPA2 است که احتمالاً ناشی از افزایش دمای مزمن در افراد واریکوسلی می‌باشد. حذف این استرس با استفاده از واریکوسلکتومی، بیان HSPA2 و درنتیجه تا شدن مناسب پروتئین‌های درگیر در روند اسپرماتوژنز را افزایش می‌دهد؛ بنابراین تاشدن مناسب پروتئین‌های درگیر در روند اسپرماتوژنز، باعث بهبود بسته‌بندی DNA و همچنین مورفولوژی و تحرک اسپرم شده که ممکن است به طور غیرمستقیم در بهبود بسته‌بندی DNA نقش مؤثری داشته باشند و همچنین مورفولوژی و تحرک بهتر اسپرم و احتمالاً باعث کاهش قطعه قطعه شدن DNA خواهد شد (۲۱).

با وجود میزان بالای آپوپتوز، برخی از سلول ها در موش ها معمولاً با وجود اختلال کریپتورکیدیسم، قادر به ادامه حیات اند، ولی درنهایت به اسپرم بالغ حاوی DNA آسیب دیده تکوین می یابند (۵۷). این امر تا حدی به دلیل اثر حفاظتی HSP القایی است که به پروتئین متصل می‌شود و از تغییر ماهیت و پیچ خوردگی نادرست پروتئین جلوگیری می‌کند (۷۲،۷۱). آسیب DNA در اسپرماتوزوآی بالغ می‌تواند به علت نقایصی در بسته بندی کروماتین باشد که از شکستگی آندروژنی در DNA ناشی می‌شود یا ناشی از روند آپوپتوز قبل از انزال اسپرم ها باشد. به علاوه میزان بالای تولید ROS نیز می‌تواند منجر به آسیب DNA شود. افزون بر این، فاکتورهای محیطی مانند سن، مصرف دارو سیگار، فاکتورهای هورمونی و افزایش دمای بیضه و بیماری‌هایی مانند واریکوسل نیز از دیگر دلایل ایجاد آسیب در DNA اسپرم به شمار می‌روند (۷۳). نتایج مطالعات Barekat و همکاران، نشان دادند که افزایش استرس اکسیداتیو و دمای بیضه در افراد مبتلا به واریکوسل علاوه بر کاهش کیفیت پارامترهای اسپرم، بر سلامت کروماتین اسپرم نیز تأثیر منفی داشته و درنتیجه، روند اسپرماتوژنز و میزان باروری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷۴).

اسپرماتوژنز یک فرآیند بسیار فعال بوده که قادر به تولید حدود ۱۰۰۰ اسپرم در هر ثانیه می‌باشد. میزان بالای تقسیم سلولی در این فرآیند، حاکی از نسبت بالای مصرف اکسیژن میتوکندریایی توسط اپیتلیوم ژرمینال می‌باشد. با این حال، خون رسانی ضعیف بیضه، باعث کاهش فشار اکسیژن در این بافت شده و رقابت برای این عنصر حیاتی در بیضه را تشدید می‌کند. از آنجا که هر دو روند اسپرماتوژنز و استروئیدوژنز (Steroidogenesis) سلول لیدیگ نسبت به استرس اکسیداتیو بسیار آسیب پذیر است، ممکن است فشار کم اکسیژن که مشخصه این بافت به حساب می‌آید، جزء مهمی از مکانیسم بیضه، جهت حفاظت خود در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد باشد. به علاوه، بیضه جهت اطمینان از عدم تأثیر استرس اکسیداتیو بر دو روند اسپرماتوژنز و استروئیدوژنز، حاوی یکسری آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و جاذب رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

با وجود تولید آنتی اکسیدان در بیضه، به منظور حفاظت از عملکرد استروئیدوژنز و تولید اسپرم، طیف گسترده‌ای از فاکتورهای داخلی و خارجی (کریپتورکیدیسم، واریکوسل، پیچ خوردگی بیضه‌ای (Testicular torsion)، پرکاری تیروئید (Hyperthyroidism)، عفونت، فعالیت بدنی، عدم تعادل هورمونی و دیابت) می‌توانند در این فرآیند حفاظتی، اختلال ایجاد کرده و باعث تولید استرس اکسیداتیو شوند (۷۵). گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) مانند آنیون سوپر اکسید،

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال‌های هیدروکسیل و رادیکال هیپوکلریت، در طول متابولیسم اکسیژن تولید شده و در بیضه یافت می‌شود. به این دلیل که آن ها به عملکردهای اسپرماتوزوآ مانند: ظرفیت‌یابی (Capacitation)، واکنش آکروزومی (Acrosome reaction)، هایپراکتیویتیشن (Hyperactivation) و اتصال اسپرم به تخمک کمک می‌کنند (۷۶،۳۷).

برای حفظ ROS در سطح قابل قبول، آنتی اکسیدان های طبیعی، مانند ویتامین C و E و کاروتنوئید در بیضه موجود می‌باشد. هنگامی‌که تعادل رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان ها از بین رود، استرس اکسیداتیو رخ داده و درنهایت منجر به آپوپتوزمی شود (۷۶،۳۱). گونه‌های فعال اکسیژن در بیضه افراد مبتلا به کریپتورکیدیسم و واریکوسل تولید می‌شود و دو راه احتمالی که آن‌ها می‌توانند در پاسخ به استرس گرمایی درگیر شوند شامل: اول، اکسیداسیون اجزای سلولی مانند DNA و چربی می‌تواند به‌طور مستقیم منجر آپوپتوز شده و دوم، تولید ROS به طور غیرمستقیم می‌تواند باعث فعال شدن آپوپتوز شود (۷۷). استرس اکسیداتیو از علل عمده برای آسیب حرارتی سلول‌های زایای است و منجر به آپوپتوز و تجزیه رشته DNA می‌شود (۷۸،۳۱،۲۹).

نشانه‌هایی وجود دارد مبنی بر اینکه در صورتی که لقاح توسط یک اسپرم در معرض شوک حرارتی انجام شود، رشد تکوین جنین کاهش پیدا کند (۳۱). گزارش شده است که لقاح آزمایشگاهی با اسپرم‌های گرفته شده از موش نر که در آن کیسه بیضه در معرض دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته بود، منجر به تولید جنین‌هایی با توانایی رشد کم است. ویژگی‌های مایع منی به‌سرعت توسط تغییر در درجه حرارت بیضه تغییر نمی‌کند، به دلیل اینکه سلول‌های زایای اسپرم آسیب دیده تا مدتی بعد از استرس گرمایی وارد مایع انزالی نمی‌شوند. به عنوان مثال، در گاو نر که در آن روند اسپرماتوژنز حدود ۶۱ روز طول می‌کشد، تغییرات در مایع منی در حدود دو هفته پس از استرس گرمایی رخ می‌دهد و تا ۸ هفته بعد پایان استرس گرمایی به حالت عادی باز نمی‌گردد (۱۰)؛ بنابراین استرس اکسیداتیو عامل مهمی در اتیولوژی ناباروری مردان است.

در سطح اسپرم جدا شده از مایع منی، حمله ROS می‌تواند باعث القای لیپید پراکسیداسیون و قطعه قطعه شدن DNA، اختلال در تحرک این سلول‌ها و عدم توانایی در حمایت از رشد جنینی به صورت طبیعی شود. در سطح بیضه، استرس اکسیداتیو قادر به اختلال در ظرفیت استروئیدوژنیک سلول‌های لیدیگ و همچنین ظرفیت اپیتلیوم زایای جهت افتراق اسپرم طبیعی است (۷۹). استرس اکسیداتیو یک جنبه کلیدی از پاتوژنز در بسیاری از بیماری‌ها است. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش دمای بیضه مشاهده شده در بیضه افراد مبتلا به واریکوسل و کریپتورکیدیسم، با افزایش سطح استرس اکسیداتیو در ارتباط است (۸۰). اسپرم انسان به استرس اکسیداتیو، سطح بالایی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن (ROS)، ازجمله: آنیون سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن بسیار حساس هستند. استرس اکسیداتیو می تواندآسیب رسان باشد و باعث آسیب اکسیداتیو به غشای پلاسمایی اسپرم و قطعه قطعه شدن DNA (DNA fragmentation) هر دو ژنوم هسته‌ای و میتوکندری شود (۸۱).

مطالعات Rao و همکاران روی تأثیر شدت استرس گرمایی بر روی اسپرم و پارامترهای مایع منی در انسان نشان داد که پارامترها و عملکرد اسپرم به صورت برگشت پذیری کاهش یافته، در حالی که سطح سرمی هورمون های جنسی، اپیدیدیمس و عملکرد غدد جنسی تحت تأثیر قرار نمی‌گرفت. علاوه بر اینکه استرس اکسیداتیو در آسیب اسپرماتوژنز شرکت می‌کند، قرار گرفتن در معرض حرارت متقاطع نسبت به حرارت متوالی می‌تواند به صورت جدی‌تر به فرآیند اسپرماتوژنز آسیب برساند. این ممکن است به اهمیت تجزیه‌وتحلیل علل بالینی کاهش کیفیت مایع منی در اثر حرارت القاء شده کمک کرده و همچنین روش‌های را جهت پیشگیری از بارداری بر اساس آسیب گرمایی نشان دهد (۸۰).

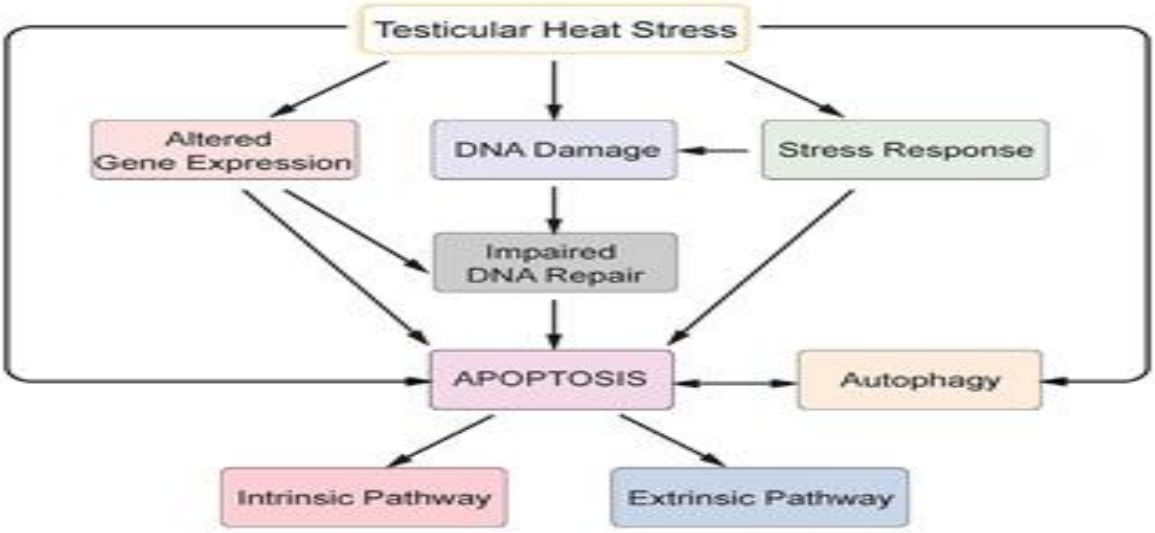
www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری:

تنظیم حرارت بیضه برای حفظ درجه حرارت بیضه در محدوده مطلوب برای اسپرماتوژنز مهم است. افزایش دمای کیسه بیضه، البته در محدوده فیزیولوژیکی، تأثیر منفی بر کیفیت اسپرم خواهد داشت (۸۱). اسپرماتوژنز، به خصوص تمایز و بلوغ اسپرماتوسیت و اسپرماتید، به دما حساس است. اسپرماتوژنز ایدئال باید حداقل در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد پایین‌تر از درجه حرارت مرکزی بدن رخ می‌دهد. افزایش دمای کیسه بیضه، نه تنها، باعث آتروفی ژرمینال بیضه، توقف اسپرماتوژنز و کاهش سطح اینهیبین B (یک مارکر بیوشیمیایی اسپرماتوژنز) می‌شود، بلکه، منجر به کاهش تعداد اسپرم در مایع منی خواهد شد (۵).

واضح است که یکسری اتفاقات می‌تواند مکانیسم تنظیم کننده حرارت کیسه بیضه را تحت تأثیر قرار دهد که شامل: بیماری تب دار مانند آنفلوآنزا، قرار گرفتن در معرض یک منبع حرارتی خارجی، مانند بعضی از شغل‌ها (نانوا، جوشکار، کارگران ریخته‌گری) و یا حمام داغ می‌باشد. بر اساس مطالعات تجربی در حیوانات آزمایشگاهی، ۳۰ دقیقه غوطه‌ور شدن در یک حمام با گرمای متوسط (۴۲-۴۰ درجه سانتی‌گراد) باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز و مهم‌تر از آن، می‌تواند باعث القای آپوپتوز (سلول‌های زایا)، آسیب DNA (سلول‌های زایا و اسپرم‌های اپیدیمی) و اختلال رشد جنین و باروری شود. همچنین استرس گرمایی می‌تواند بیان ژن در بیضه را تغییر داده و باعث اختلال در تنظیم فرآیند اسپرماتوژنز شود (۱). نتایج استرس گرمای بیضه‌ای بر سلول‌های زایا در تصویر شماره ۵ به اختصار نشان داده شده است.



تصویر شماره ۵: اتوفاژی و آپوپتوز پاسخ سلول‌های زایای مرد به استرس گرمای بیضه

زمانی که بیضه‌ها در شرایط استرس گرمایی هستند، سلول‌های زایا از طریق مکانیسم داخلی یا بیرونی تحت فرآیند آپوپتوز قرار می‌گیرند. آپوپتوز می‌تواند از طرق مختلف، ازجمله پاسخ به استرس، تخریب DNA و تغییر در بیان ژن، منجر به مرگ سلولی شود. همچنین اتوفاژی، به عنوان یک پشتیبان یا همراه آپوپتوز، مسئول مرگ سلول‌های زایا می‌باشد (۱).

با این حال، عواقب تنش گرما بر سلول های ژرمینال، به طور کامل شناخته نشده است و این مسئله حکم می‌کند که به مطالعات ژنتیکی بیشتری برای فهم بهتر مسیرهای تنظیم پاسخ‌های استرس حرارتی سلول‌های زایای مردانه و کشف ژن‌های جدید که ممکن است در این فرآیند درگیر باشند، نیاز است.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از کلیه افرادی که در ارائه این مقاله همکاری نمودند؛ مخصوصاً پرسنل محترم پژوهشکده زیست فناوری و مسئولان گرامی پژوهشگاه رویان ابراز می‌دارند.

منابع:

1. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. Reprod Biomed Online. 2015; 30(1): 14-27.
2. 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.
3. Cheng CY, Mruk DD. The blood-testis barrier and its implications for male contraception. Pharmacol Rev. 2012; 64(1): 16-64.
4. Darszon A, Nishigaki T, Beltran C, Trevino CL. Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. Physiol Rev. 2011; 91(4): 1305-55.
5. Kim B, Park K, Rhee K. Heat stress response of male germ cells. Cell Mol Life Sci. 2013; 70(15): 2623-36.
6. Robbins WA, Elashoff DA, Xun L, Jia J, Li N, Wu G, et al. Effect of lifestyle exposures on sperm aneuploidy. Cytogenet Genome Res. 2005; 111(3-4): 371-7.
7. Pomara G, Morelli G, Canale D, Turchi P, Caglieresi C, Moschini C, et al. Alterations in sperm motility after acute oral administration of sildenafil or tadalafil in young, infertile men. Fertil Steril. 2007; 88(4): 860-5 .
8. Werdelin L, Nilsonne A. The evolution of the scrotum and testicular descent in mammals: A phylogenetic view. J Theor Biol. 1999; 196(1): 61-72.
9. Bedford JM. Enigmas of mammalian gamete form and function. Biol Rev Camb Philos Soc. 2004; 79(2): 429-60.
10. Hansen PJ. Effects of heat stress on mammalian reproduction. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2009; 364(1534): 3341-50.
11. Carlsen E, Andersson AM, Petersen JH, Skakkebaek NE. History of febrile illness and variation in semen quality. Hum Reprod. 2003; 18(10): 2089-92.
12. Kumar S, Kumari A, Murarka S. Lifestyle factors in deteriorating male reproductive health. Indian J Exp Biol. 2009; 47(8): 615-24 .
13. Shefi S, Tarapore PE, Walsh TJ, Croughan M, Turek PJ. Wet heat exposure: A potentially reversible cause of low semen quality in infertile men. Int Braz J Urol. 2007; 33(1): 50-6.
14. Kumar S, Mankad M, editors. Environment chemicals and reproductive health. Proceedings of the Conference on Recent Advances and Challenges in Reproductive Health Research; 2007, India: ICMR, New Delhi; 2007.
15. Ivell R. Lifestyle impact and the biology of the human scrotum. Reprod Biol Endocrinol. 2007; 5: 15.
16. Ivell R, Hartung S. The molecular basis of cryptorchidism. Mol Hum Reprod. 2003; 9(4): 175-81 .
17. Hadziselimovic F. Cryptorchidism, its impact on male fertility. Eur Urol. 2002; 41(2): 121-3 .
18. Rusnack SL, Wu HY, Huff DS, Snyder HM, 3rd, Carr MC, Bellah RD, et al. Testis histopathology in boys with cryptorchidism correlates with future fertility potential. J Urol. 2003; 169(2): 659-62.
19. Hadziselimovic F, Herzog B. The importance of both an early orchidopexy and germ cell maturation for fertility. Lancet. 2001; 358(9288): 1156-7.
20. Zhu B, Walker SK, Oakey H, Setchell BP, Maddocks S. Effect of paternal heat stress on the development *in vitro* of preimplantation embryos in the mouse. Andrologia. 2004; 36(6): 384-94.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Nasr-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): 104-13.
22. Bahreinian M, Tavalaee M, Nasr-Esfahani MH. Comparison of Sperm Quality, Oxidative Stress, DNA Fragmentation, Protamine Deficiency, and DNA Methylation in Varicocele and Fertile Individuals. Int J Fertil Steril. 2014; 8(5): 66-9.
23. Azadi L, Abbasi H, Deemeh MR, Tavalaee M, Arbabian M, Pilevarian AA, et al. Zaditen (Ketotifen), as mast cell blocker, improves sperm quality, chromatin integrity and pregnancy rate after varicocelectomy. Int J Androl. 2011; 34(5): 446-52.
24. 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 .
25. Yin Y, DeWolf WC, Morgentaler A. p53 is associated with the nuclear envelope in mouse testis. Biochem Biophys Res Commun. 1997; 235(3): 689-94.
26. Perez-Crespo M, Pintado B, Gutierrez-Adan A. Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice. Mol Reprod Dev. 2008; 75(1): 40-7.
27. Yaeram J, Setchell BP, Maddocks S. Effect of heat stress on the fertility of male mice in vivo and *in vitro*. Reprod Fertil Dev. 2006; 18(6): 647-53.
28. Kim B, Park K, Rhee K. Heat stress response of male germ cells. Cell Mol Life Sci. 2013; 70(15): 2623-36.
29. Paul C, Murray AA, Spears N, Saunders PT. A single, mild, transient scrotal heat stress causes DNA damage, subfertility and impairs formation of blastocysts in mice. Reproduction. 2008; 136(1): 73-84.
30. Kong WH, Zheng G, Lu JN, Tso JK. Temperature dependent expression of cdc2 and cyclin B1 in spermatogenic cells during spermatogenesis. Cell Res. 2000; 10(4): 289-302 .
31. Paul C, Teng S, Saunders PT. A single, mild, transient scrotal heat stress causes hypoxia and oxidative stress in mouse testes, which induces germ cell death. Biol Reprod. 2009; 80(5): 913-9 .
32. Lue YH, Lasley BL, Laughlin LS, Swerdloff RS, Hikim AP, Leung A, et al. Mild testicular hyperthermia induces profound transitional spermatogenic suppression through increased germ cell apoptosis in adult cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). J Androl. 2002; 23(6): 799-805.
33. Mieusset R, Bengoudifa B, Bujan L. Effect of posture and clothing on scrotal temperature in fertile men. J Androl. 2007; 28(1): 170-5.
34. Sheynkin Y, Jung M, Yoo P, Schulsinger D, Komaroff E. Increase in scrotal temperature in laptop computer users. Hum Reprod. 2005; 20(2): 452-5.
35. Jung A, Strauss P, Lindner HJ, Schuppe HC. Influence of moderate cycling on scrotal temperature. Int J Androl. 2008; 31(4): 403-7.
36. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, et al. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. J Androl. 2006; 27(3): 450-2.
37. Shiraishi K, Matsuyama H, Takihara H. Pathophysiology of varicocele in male infertility in the era of assisted reproductive technology. Int J Urol. 2012; 19(6): 538-50.
38. Chowdhury AK, Steinberger E. Early changes in the germinal epithelium of rat testes following exposure to heat. J Reprod Fertil. 1970; 22(2): 205-12.
39. Lue YH, Hikim AP, Swerdloff RS, Im P, Taing KS, Bui T, et al. Single exposure to heat induces stage-specific germ cell apoptosis in rats: Role of intratesticular testosterone on stage specificity. Endocrinology. 1999; 140(4): 1709-17.
40. Eisenberg-Lerner A, Bialik S, Simon HU, Kimchi A. Life and death partners: Apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. Cell Death Differ. 2009; 16(7): 966-75 .
41. Wechalekar H, Setchell BP, Peirce EJ, Ricci M, Leigh C, Breed WG. Whole-body heat exposure induces membrane changes in spermatozoa from the cauda epididymidis of laboratory mice. Asian J Androl. 2010; 12(4): 591-8.

www.SID.ir

Archive of SID

42. Setchell BP, Ploen L, Ritzen EM. Effect of local heating of rat testes after suppression of spermatogenesis by pretreatment with a GnRH agonist and an anti-androgen. Reproduction. 2002; 124(1): 133-40.
43. Setchell BP, Ploen L, Ritzen EM. Reduction of long-term effects of local heating of the testis by treatment of rats with a GnRH agonist and an anti-androgen. Reproduction. 2001; 122(2): 255-63 .
44. Mete F, Kilic E, Somay A, Yilmaz B. Effects of heat stress on endocrine functions and behaviour in the pre-pubertal rat. Indian J Med Res. 2012; 135: 233-9.
45. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: an immunohistochemical and ultrastructural study. Toxicol Ind Health. 2013; 29(2): 99-113.
46. Cai H, Ren Y, Li XX, Yang JL, Zhang CP, Chen M, et al. Scrotal heat stress causes a transient alteration in tight junctions and induction of TGF-beta expression. Int J Androl. 2011; 34(4): 352-62.
47. Kanter M, Aktas C. Effects of scrotal hyperthermia on Leydig cells in long-term: A histological, immunohistochemical and ultrastructural study in rats. J Mol Histol. 2009; 40(2): 123-30.
48. Zhang ZH, Hu ZY, Song XX, Xiao LJ, Zou RJ, Han CS, et al. Disrupted expression of intermediate filaments in the testis of rhesus monkey after experimental cryptorchidism. Int J Androl. 2004; 27(4): 234-9.
49. Zhang XS, Zhang ZH, Jin X, Wei P, Hu XQ, Chen M, et al. Dedifferentiation of adult monkey Sertoli cells through activation of extracellularly regulated kinase 1/2 induced by heat treatment. Endocrinology. 2006; 147(3): 1237-45.
50. Setchell B.P. The effects of heat on the testes of mammals. Anim Reprod. 2006; 3(2): 81-91.
51. Aktas C, Kanter M. A morphological study on Leydig cells of scrotal hyperthermia applied rats in short-term. J Mol Histol. 2009; 40(1): 31-9.
52. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. Cell. 2008; 132(1): 27-42.
53. 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.
54. Periyasamy-Thandavan S, Jiang M, Schoenlein P, Dong Z. Autophagy: Molecular machinery, regulation, and implications for renal pathophysiology. Am J Physiol Renal Physiol. 2009; 297(2): F244-56.
55. 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.
56. Print CG, Loveland KL. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. Bioessays. 2000; 22(5): 423-30.
57. Banks S, King SA, Irvine DS, Saunders PT. Impact of a mild scrotal heat stress on DNA integrity in murine spermatozoa. Reproduction. 2005; 129(4): 505-14.
58. 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 .
59. Garolla A, Torino M, Miola P, Caretta N, Pizzol D, Menegazzo M, et al. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function. Hum Reprod. 2015; 30(5): 1006-13.
60. Afiyani AA, Deemeh MR, Tavalaee M, Razi M, Bahadorani M, Shokrollahi B, et al. Evaluation of heat-shock protein A2 (HSPA2) in male rats before and after varicocele induction. Mol Reprod Dev. 2014; 81(8): 766-76.
61. Legare C, Thabet M, Sullivan R. Expression of heat shock protein 70 in normal and cryptorchid human excurrent duct. Mol Hum Reprod. 2004; 10(3): 197-202.
62. Rockett JC, Mapp FL, Garges JB, Luft JC, Mori C, Dix DJ. Effects of hyperthermia on spermatogenesis, apoptosis, gene expression, and fertility in adult male mice. Biol Reprod. 2001; 65(1): 229-39.
63. Stankiewicz AR, Livingstone AM, Mohseni N, Mosser DD. Regulation of heat-induced apoptosis by Mcl-1 degradation and its inhibition by Hsp70. Cell Death Differ. 2009; 16(4): 638-47.

www.SID.ir

Archive of SID

64. 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.
65. Pei Y, Wu Y, Qin Y. Effects of chronic heat stress on the expressions of heat shock proteins 60, 70, 90, A2, and HSC70 in the rabbit testis. Cell Stress Chaperones. 2012; 17(1): 81-7.
66. Sreedhar AS, Csermely P. Heat shock proteins in the regulation of apoptosis: New strategies in tumor therapy: a comprehensive review. Pharmacol Ther. 2004; 101(3): 227-57.
67. Motiei M, Tavalaee M, NASR EM. The role and effect of HSPA2 in male infertility; 2012.
68. Huszar G, Stone K, Dix D, Vigue L. Putative creatine kinase M-isoform in human sperm is identifiedas the 70-kilodalton heat shock protein HspA2. Biol Reprod. 2000; 63(3): 925-32.
69. Lima SB, Cenedeze MA, Bertolla RP, Hassun Filho PA, Oehninger S, Cedenho AP. Expression of the HSPA2 gene in ejaculated spermatozoa from adolescents with and without varicocele. Fertil Steril. 2006; 86(6): 1659-63.
70. 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 .
71. Legare C, Thabet M, Sullivan R. Expression of heat shock protein 70 in normal and cryptorchid human excurrent duct. Mol Hum Reprod. 2004; 10(3): 197-202.
72. 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.
73. Nasr-Esfahani MH, Tavalaee M, Deemeh M. Origins and Evaluation of DNA Damage in Infertile Individual. J Iran Anat Sci. 2008; 24: 489-500.
74. Barekat F, Tavalaee M, Deemeh MR, Bahreinian M, Azadi L, Abbasi H, et al. A Preliminary Study: N-acetyl-L-cysteine Improves Semen Quality following Varicocelectomy. Int J Fertil Steril. 2016; 10(1): 120.
75. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. Oxid Med Cell Longev. 2008; 1(1): 5-24.
76. Agarwal A, Hamada A, Esteves SC. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. Nat Rev Urol. 2012; 9(12): 678-90.
77. Shiraishi K, Takihara H, Matsuyama H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. World J Urol. 2010; 28(3): 359-64.
78. Perez-Crespo M, Pintado B, Gutierrez-Adan A. Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice. Mol Reprod Dev. 2008; 75(1): 40-7.
79. Bromfield EG, Aitken RJ, Anderson AL, McLaughlin EA, Nixon B. The impact of oxidative stress on chaperone-mediated human sperm-egg interaction. Hum Reprod. 2015; 30(11): 2597-613.
80. Rao M, Zhao XL, Yang J, Hu SF, Lei H, Xia W, et al. Effect of transient scrotal hyperthermia on sperm parameters, seminal plasma biochemical markers, and oxidative stress in men. Asian J Androl. 2015; 17(4): 668-75.
81. Hjollund NH, Storgaard L, Ernst E, Bonde JP, Olsen J. Impact of diurnal scrotal temperature on semen quality. Reprod Toxicol. 2002; 16(3): 215-21.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2018; 20(5): 110-127.

Review article

Effect of heat stress on Spermatogenesis

Tavalaee M[1*], Sadeghi N[1], Nasr- Esfahani M.H[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: 3/8/2017 Accepted: 23/Nov/2017

Background and aims: Spermatogenesis is a complex series of processes involved in distinction of spermatogonia into mature spermatozoa. These developmental processes are influenced by different factors, including heat stress that it reduces sperm quality and negatively effects fertility. It is difficult to avoid the factors like life style, occupational, environmental to pathophysiological factors that increase the temperature of scrotum. So, testicular thermoregulation is essential to ensure production of viable and efficient sperm to maintain fertility. A number of studies conducted over past few decades have examined the adverse effects of heat on spermatogenesis in various mammalian species. In this study, the aim was to discuss the effects of heat on spermatogenesis cycle of germ cells and molecular response upon exposure to heat and possible mechanisms involved in germ cell damage caused by heat, apoptosis, DNA damage and autophagy.
Methods: In this study, relevant articles between 1997 and 2016 were obtained by searching PubMed database and using Google Scholar search engine.
Results: Temperature plays an important role in the development of germ cells as well as reproductive cycle of living beings, but failure to thermoregulation scrotum increases the temperature of the testicles, which can lead to genital heat stress, and this is detrimental to spermatogenesis.
Conclusion: Conducting more investigations and paying more attention to different mechanisms of heat effects on testis and sperm could lead to impressive improvement in etiology of male infertility

Key words: **Heat stress, Spermatogenesis, Infertility, Hyperthermia.**

Cite this article as: Tavalaee M, Sadeghi N, Nasr- Esfahani M.H. Effect of heat stress on Spermatogenesis. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(5): 110-127.

[*]**Corresponding author:**
Reproductive Biotechnology Dept., Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989133143431, E-mail: tavalaee.m@gmail.com

www.SID.ir