اسپرماتوژنزیس برون‌تنی
و عوامل مؤثر در بهبود آن

مؤلفین:

شقایق محمدی

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم تشریح دانشگاه تربیت مدرس

پروفسور منصوره موحدین

دکترای تخصصی علوم تشریح، جنین‌شناسی

رئیس دانشکده علوم‌پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

ROYAN-PAZHOUH PUBLISHER

انتشارات رویان پژوه

سرشناسه	: محمدی، شقایق، ۱۳۷۳-
عنوان و نام پدیدآور	: اسپرماتوژنزیس برون‌تنی و عوامل موثر در بهبود آن/ مولفین شقایق محمدی، منصوره موحدین.
مشخصات نشر	: تهران : رویان‌پژوه، ۱۴۰۰.
مشخصات ظاهری	: ۶۴ ص.: جدول.
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۴۰۸-۸۹۴-۷
وضعیت فهرست نویسی	: فیپا
یادداشت	: کتابنامه: ص. [۴۹] - ۶۱.
یادداشت	: نمایه.
موضوع	: اسپرم‌سازی
موضوع	: Spermatogenesis
شناسه افزوده	: موحدین، منصوره، ۱۳۴۱ -
رده بندی کنگره	: QP۲۵۵
رده بندی دیویی	: ۶۱۲/۶۱
شماره کتابشناسی ملی	: ۸۴۵۲۲۸۰

ROYAN-PAZHOUH PUBLISHER
انتشارات رویان پژوه

اسپرماتوژنزیس برون‌تنی و عوامل مؤثر در بهبود آن

مؤلفین: شقایق محمدی، پروفسور منصوره موحدین

ناشر:	**رویان پژوه**
نوبت چاپ:	اول - ۱۴۰۰
صفحه آرا:	مصطفی ابدان
چاپ و صحافی:	نور
قطع و تعداد صفحات:	وزیری - ۶۴
شمارگان:	۲۰۰ نسخه
بها:	۳۰۰۰۰ تومان

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۴۰۸-۸۹۴-۷

کلیه حقوق مادی و معنوی اثر متعلق به ناشر است و هرگونه تکثیر، بازنویسی، خلاصه‌برداری و یا برداشت به هر نحوی بدون اجازه کتبی از ناشر مجاز نبوده و منجر به پیگرد قانونی می‌باشد.

دفتر نشر و نمایشگاه دائمی: تهران، خیابان انقلاب، بین ۱۲ فروردین و منیری جاوید (روبروی دبیرخانه دانشگاه تهران)

ساختمان کتاب‌های جیبی، طبقه سوم **تلفن: ۶۶۹۷۰۷۴۰ - ۶۶۴۸۶۳۷۳**

www. RPpub. ir

فهرست

پیشگفتار ۹

فصل ۱: مقدمه و اسپرماتوژنزیس ۱۱

۱-۱. مقدمه ۱۲

۱-۲. بافت بیضه ۱۳

۱-۳. اسپرماتوژنزیس ۱۳

۱-۴. سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۱۴

۱-۴-۱. شناسایی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۱۴

۱-۴-۲. مورفولوژی و ارزیابی عملکردی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۱۶

۱-۵. نشانگرهای سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۱۶

۱-۵-۱. نشانگرهای سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی موش ۱۶

۱-۵-۲. نشانگرهای سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی انسان ۱۶

۱-۶. اهمیت اسپرماتوژنزیس ۱۷

۱-۷. فرآیند اسپرماتوژنزیس ۱۸

۱-۸. اسپرماتوژنزیس در محیط آزمایشگاه ۱۸

۱-۹. عوامل مؤثر بر روی روند اسپرماتوژنزیس ۱۹

۱-۱۰. اسید رتینوئیک ۱۹

۱-۱۱. هورمون‌ها ۲۰

۱-۱۲. ژن‌های آپوپتوز و بقا در کنترل تعداد سلول زایا ۲۱

۱-۱۳. اختلال در فرایند اسپرم زائی و نقش آن در ناباروری ۲۲

۱-۱۴. درمان ناباروری با علل مردانه ۲۲

فصل ۲: کشت دو بعدی-کشت سه بعدی- پیوند -انجماد ۲۳
۲-۱. کشت دو بعدی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۲۴
۲-۲. انواع کشت سلول به صورت دو بعدی سه بعدی ۲۵
۲-۳. مروری بر کشت سه بعدی ۲۶
۲-۳-۱. کشت سه بعدی مبتنی بر داربست ۲۶
۲-۳-۲. کشت سه بعدی مستقل از داربست ۲۷
۲-۴. کشت سه بعدی سلول در ابزارهای میکروسیالی ۲۹
۲-۵. استفاده از کشت سه بعدی برای ایجاد اسپرماتوژنز آزمایشگاهی ۳۰
۲-۶. محیط کشت پویا و استاتیک ۳۱
۲-۶-۱. کشت استاتیک ۳۱
۲-۶-۲. کشت داینامیک ۳۱
۲-۷. کشت بافت بیضه ۳۲
۲-۸. داربست‌های مشتق از بافت بیضه سلول‌زدایی شده ۳۲
۲-۹. پیوند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۳۴
۲-۱۰. پیوند آلوگرافت و زنوگرافت قطعات بیضه ۳۵
۲-۱۱. حفظ باروری ۳۵
۲-۱۲. حفظ طولانی مدت سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۳۶
۲-۱۲-۱. کشت طولانی مدت سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۳۶
۲-۱۲-۲. انجماد سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۳۶
۲-۱۳. انجماد بافت بیضه حاوی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی ۳۷
فصل ۳: تأثیرات پارامترهای فیزیکی بر اسپرماتوژنزیس ۳۹
۳-۱. معرفی امواج فراصوت ۴۰
۳-۲. امواج فراصوت در پزشکی ۴۱
۳-۳. مکانیسم عملکرد امواج فراصوت ۴۱
۳-۴. سونوژنتیک و مکانیسم عملکرد آن در استفاده درمانی از امواج فرا صوت ۴۲
۳-۵. تأثیرات بیوفیزیک امواج فراصوت با شدت پایین ۴۳
۳-۶. تأثیر امواج بر روی بافت‌های سخت ۴۳
۳-۷. تأثیر امواج روی انواع مختلف دیگر ۴۳

۳-۸. تأثیر امواج بر روی سلول بنیادی ۴۴
۳-۹. تأثیر امواج فراصوت بر روند اسپرماتوژنزیس ۴۴
طراحی آزمایش..... ۴۵
۳-۱۰. نتایج حاصل از مرحله‌ی اول آزمایش..... ۴۶
۳-۱۰-۱. نتایج ارزیابی‌های پارامترهای بهینه تابش امواج فراصوت در ۳ فاز تعریف شده ...۴۶
۳-۱۱. نتایج حاصل از مرحله‌ی دوم آزمایش..... ۴۷
۳-۱۱-۱. ارزیابی‌های حاصل از کشت گروه‌های نهایی با پارامترهای بهینه..... ۴۷
۳-۱۲. نتیجه‌گیری..... ۴۸
منابع..... ۴۹
واژه‌یاب ۶۲

پیشگفتار

سپاس و ستایش ایزد منان را که با الطاف بیکران خود توفیق نشر این کتاب را به ما عنایت فرمود.

با وجود توسعه روز افزون علوم و دستیابی به وسایل آموزشی و کمک آموزشی می‌توان به جرأت اقرار نمود که هنوز هم کتاب می‌تواند به عنوان قدیمی‌ترین و راحت‌ترین راه برای اطلاع رسانی دانش عمومی در خدمت متخصصان و دانشجویان نقش ایفا نماید. ناباروری و عدم توانایی فرد برای انجام طبیعی فرآیند تولیدمثل و صاحب فرزند شدن به عنوان یکی از تجربیات تلخ و دردآور زندگی است که می‌تواند به عنوان یک بحران پیچیده زندگی از لحاظ روان شناختی تهدیدکننده باشد و به جهت تأثیرگذاری ناباروری در زندگی بشری، بخش مهمی از طبابت و تحقیق در جامعه پزشکی را به خود اختصاص داده است. کتاب حاضر با عنوان اسپرماتوژنزیس برون‌تنی و عوامل مؤثر در بهبود آن با هدف کمک به درمان ناباروری با علل مردانه به کلیه دانشجویان پژوهشگر در این زمینه تحقیقاتی تقدیم می‌گردد. این کتاب شامل ۳ فصل می‌باشد که در هر فصل در ابتدا مفاهیم پایه و تکنیک آزمایشگاهی مرتبط شرح داده شده و سپس مطالعات اخیرمربوطه و نتایج حاصل از آن ارائه شده است. در فصل اول به مطالعه فرآیند اسپرماتوژنزیس درون‌تنی و عوامل تأثیر گذار بر بهبود روند آن، نشانگرهای سلول بنیادی اسپرماتوگونیا، اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز و نقش آن در ناباروری پرداخته شده است. در فصل دوم انواع کشت سلولی به صورت دوبعدی و سه بعدی، پیوند و انجماد سلول بنیادی اسپرماتوگونیا مورد بررسی قرار گرفته است. در نهایت در فصل سوم تأثیرات پارامترهای فیزیکی بر اسپرماتوژنزیس، معرفی امواج فراصوت و تأثیرآن بر سلول بنیادی اسپرماتوگونیا و روند اسپرماتوژنزیس توضیح داده شده است. در پایان برخود لازم می‌دانم از راهنمایی‌های ارزشمند استاد عزیز و گرامی‌ام سرکار خانم دکتر منصوره موحدین و زحماتشان در غنی‌تر نمودن محتوای این مجموعه سپاسگزاری کنم. با وجود تلاش فراوان در تألیف کتاب، مؤلفین معتقدند مجموعه حاضر خالی از نقص نیست. لذا خواهشمند است محققان و دانشجویان گرامی در صورت لزوم ما را با انتقادات و راهنمایی‌های خود در رفع نقایص این کتاب یاری نمایند.

شقایق محمدی

تابستان ۱۴۰۰

فصل ۱

مقدمه و اسپرماتوژنزیس

نویسندگان:

شقایق محمدی

دکتر منصوره موحدین

۱-۱. مقدمه

فرآیند اسپرم‌زایی یک فرآیند پیچیده سلولی می‌باشد که شامل تقسیم سلولی میتوز، میوز و فرآیند اسپرمیوژنز است. این فرآیند با تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی آغاز و با تقسیم میتوز سلول‌های اسپرماتوگونی، تقسیم میوز اسپرماتوسیت‌ها و تغییرات مورفولوژیکی در اسپرماتیدها دنبال می‌شود که نهایتا منجر به تولید اسپرماتوزوا می‌گردد. شناخت فرایند اسپرم‌زایی در محیط آزمایشگاه از اهمیت بالایی برخوردار است و درک این فرآیند می‌تواند کمک شایانی به درمان افراد نابارور کند. یکی از راه‌های درک این فرآیند جداسازی، کشت و ذخیره بافت بیضه در محیط کشت می‌باشد. سیستم‌های مختلف کشتی از جمله کشت دوبعدی و کشت سه بعدی در شرایط آزمایشگاهی به منظور معرفی جایگزین مناسب برای پیشبرد اسپرم‌زایی و در نهایت رسیدن به اسپرماتوزوای بالغ و عملکردی برای استفاده در روش‌های درمان ناباروری است یکی از سیستم‌های کشتی مورد استفاده در کشت بافت بیضه، سیستم کشت آگار می‌باشد که به وسیله‌ی فراهم کردن یک لایه ضخیم برای سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و سلول‌های سوماتیک بیضه‌ای، ریز محیطی شبیه اپی‌تلیوم سمی نفروزیس را ایجاد می‌کند که می‌تواند مانع ایسکمی و رشد طولانی مدت بافت گردد. عوامل زیادی وجود دارند که بر فرآیند اسپرم‌زایی موثر هستند از جمله این عوامل می‌توان به فاکتورهای رشد، هورمون‌ها اشاره کرد. بنابراین نقص ایجاد شده در هر یک از این موارد می‌تواند منجر به ایجاد انواع موارد ناباروری گردد و شناخت عوامل تأثیرگذار در بهبود فرایند اسپرم‌زایی در بافت بیضه در محیط آزمایشگاه در جهت کمک به درمان افراد نابارور با علل مردانه از اهمیت بالایی برخوردار است. امروزه روش‌هایی نظیر کشت سلول‌های زایا، انجماد[1]، پیوند[2] این سلول‌ها می‌تواند کمک شایانی در راستای درک بیولوژیکی سلول‌های زایا و عوامل موثر در ناباروری فراهم آورد. همچنین مطالعات اخیر نشان دادند که در مهندسی بافت روش‌های متعددی برای بهبود عملکرد سلولی و بازسازی بافت مورد استفاده قرار گرفته شده است که یکی از این روش‌های نوین استفاده از امواج صوتی مخصوصا امواج فراصوت با شدت پایین می‌باشد که می‌تواند نقش مهمی در متابولیسم سلولی و بازسازی بافت‌ها ایفا کند. امواج فراصوت یک نوع خاصی از امواج صوتی با فرکانس بالاتر از محدوده شنوایی انسان ۲ تا ۲۰ کیلوهرتز هستند که هنگام عبور از بافت‌های بیولوژیکی طیف وسیعی از تأثیرات را می‌توانند ایجاد کنند و باعث ایجاد محرک‌های مکانیکی و ایجاد رویدادهای بیوشیمیایی در بافت زنده شوند که باعث بهبودی بافت می‌شود، با توجه به نقش و اهمیت روند اسپرم‌زایی در بافت بیضه در این مطالعه سعی بر آن است که عوامل مرتبط و مؤثر در روند اسپرماتوژنز در محیط آزمایشگاه به تفصیل بیان گردد.

1. Cryopreservation
2. Transplantation

۱-۲. بافت بیضه

دستگاه تولید مثل نر شامل یک جفت بیضه (که در کیسه اسکروتوم واقع شده است)، کانال‌ها، مجاری وابران، اپی‌دیدیم، مجرای دفران، غدد ضمیمه، مجرای انزالی وآلت تناسلی است (۱، ۲). بیضه در همه‌ی پستانداران نر یک غده‌ی بزرگ با هر دو نقش درون ریز و برون ریز می‌باشد (۳، ۴) بیضه‌ها در موش از طریق کانال‌های آزاد در ناف با حفره شکم در ارتباط هستند در حالی که در انسان کانال نافی به طور معمول پس از نزول بیضه بسته می‌شود (۵). بیضه در جوندگان از دو قسمت متفاوت لوله‌های منی ساز[1] و بافت بینابینی[2] تشکیل شده است، لوله‌های منی‌ساز دارای دو نوع سلول کاملا متمایز ۱- سلول‌های زاینده (که در بافت پوششی لوله‌های منی‌ساز وجود دارند) ۲- سلول‌های سرتولی (که در تنظیم اسپرماتوژنز[3] نقش هدایت کننده‌ای دارند) می‌باشند (۶).

۱-۳. اسپرماتوژنزیس

اسپرماتوژنز در پستانداران با تبدیل گونوسیت‌ها[4] به سلول‌های زایا اسپرماتوگونی[5] که در لوله‌های منی‌ساز روی می‌دهد، آغاز می‌شود (۷). سلول‌های زایای اسپرماتوگونی پایه‌ای برای تولید مداوم روزانه میلیون‌ها اسپرماتوزوا در بیضه بزرگسالان در طول عمر یک فرد نر هستند (۸). اسپرم‌سازی در بیضه تحت کنترل تستوسترون مترشحه از آن صورت می‌گیرد و فعالیت ترشحی بیضه‌ها نیز تحت کنترل محور هیپوتالاموس - هیپوفیز -بیضه می‌باشد و همچنین اسپرماتوژنز توسط هورمون تستوسترون[6] و FSH [7] تنظیم می‌شود (۹).

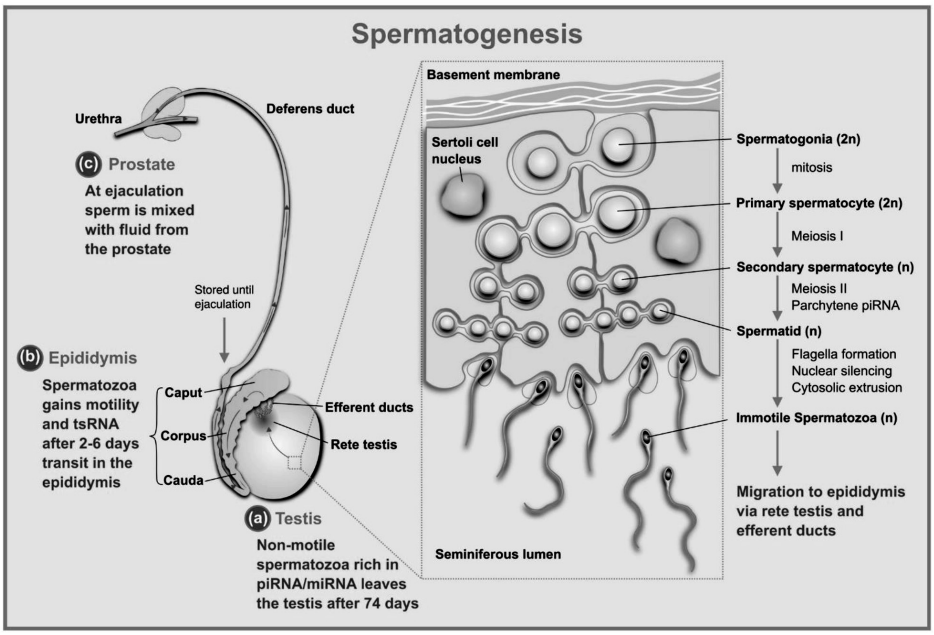
مراحل اسپرماتوژنز شامل ۳ فرایند بیولوژیکی اساسی است:

۱. تجدید سلول‌های بنیادی، تولید و گسترش سلول‌های اجدادی (میتوز)
۲. کاهش تعداد کروموزوم‌ها به نصف تعداد اولیه در هر سلول اجدادی (میوز)
۳. تمایز منحصر به فرد از سلول‌های هاپلوئید (اسپرمیوژنز[8])

سلول‌های زایا ابتدا با تقسیمات میتوزی مکرر تکثیر می‌یابند، سپس طی میوز اسپرماتید های[9] کروی هاپلوئیدی تولید می‌شوند. میوز منجر به مضاعف شدن کروموزوم‌ها، نوترکیبی و سپس کاهش کروموزوم‌ها طی دو تقسیم سلولی می‌شود و پس از آن اسپرماتیدها به اسپرماتوزواهای[10] بسیار متراکم تمایز یافته و به

1. seminiferous tubules
2. Interstitial tissue
3. Spermatogenesis
4. Gonocyte
5. SSCs
6. Testosterone
7. Follicle stimulating hormone
8. Spermiogenes
9. spermatid
10. Spermatozoa

درون لومن لوله‌های منی‌ساز آزاد می‌گردند (۹).



شکل ۱-۱ فرایند اسپرماتوژنزیس در بافت بیضه (۱۰)

۱-۴. سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی

۱-۴-۱. شناسایی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی

سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در موش: سلول اسپرماتوگونی در جوندگانی مثل موش و رت به اسپرماتوگونی نوع (A)، بینابینی و گروه B گروه‌بندی می‌شود، اسپرماتوگونی A خود شامل تمایز نیافته (A0) و اسپرماتوگونی (A1-A4) تمایز یافته هستند. اسپرماتوگونی A0 در اثر تمایز به اسپرماتوگونی‌های Aal و Apr، As تبدیل می‌شود. اسپرماتوگونی‌های As فرد است در حالی که اسپرماتوگونی Apr جفت و Aal به شکل زنجیری بوده و توسط پل‌های سیتوپلاسمی به هم اتصال دارند (۱۰). اسپرماتوگونی As همان سلول بنیادی فرایند اسپرم‌زایی است و درصد خیلی کمی از سلول‌های بیضه‌ها را تشکیل می‌دهند (۱۱). آنها در قاعده لوله‌های منی‌ساز تقسیم و تمایز می‌یابند. پس از تقسیم سلول‌های دختری می‌توانند از یکدیگر جدا و منجر به خودنوزایی گردند و یا توسط پل‌های سیتوپلاسمی به همدیگر متصل شده که در اصطلاح اسپرماتوگونی جفت نامیده می‌شوند و این اولین مرحله تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی است.

پس از تشکیل سلول اسپرماتوگونی جفت حدود نه تا ده تقسیم دیگر صورت گرفته که منجر به تشکیل کلون‌های اسپرماتوگونیال با زنجیر بلند می‌گردند و در انتهای این مرحله اسپرماتوگونی B شکل می‌گیرد.