SJRM
SAREM JOURNAL OF REPRODUCTIVE MEDICINE

Sarem Journal of Reproductive Medicine. 2018;3(3):177-183

Role of Epigenetics in Male Infertility

ARTICLE INFO

Article Type
Systematic Review

Authors
Akhtarkhavari T.[1] *MSc*,
Behjati F.* *PhD*

How to cite this article
Akhtarkhavari T, Behjati F. Role of Epigenetics in Male Infertility. Sarem Journal of Reproductive Medicine. 2018;2(4):177-183.

*"Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR)" and "Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital" and "Genetics Research Center, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences",Tehran, Iran
[1]Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

Correspondence
Address: Sarem Women's Hospital, Basij Square, Phase 3, Ekbatan Town, Tehran, Iran. Postal Code: 1396956111
Phone: +98 (21) 44670888
Fax: +98 (21) 44670432
fbehjati@gmail.com

Article History
Received: April 3, 2017
Accepted: October 20, 2017
ePublished: November 15, 2018

ABSTRACT

Introduction Male infertility is a complex medical condition, within which epigenetic factors play an important role. The present review study was conducted to collect epigenetic changes in infertile men. Therefore, more than 50 articles published in the PubMed database were reviewed. All articles published until April 2016 containing the keywords *epigenetics, epimutation*, and *epidrug* with the word *infertility* were reviewed.

Conclusion The recent studies have revealed the effects of several epigenetic factors on infertility in men, including histone modification, defects in chromatin-modifying complexes, and methylation modification in promoters of various genes. At present, the available treatments do not account for all infertile men, and this is especially important for idiopathic infertility. Regarding the epigenetic role in male infertility, recognizing epigenetic mechanisms enables us to develop new epidrugs that can be used in the treatment of infertility in near future.

Keywords Male Infertility; Epigenetic; Genetic; Oligospermia

CITATION LINKS

[1] A multi-faceted approach to understanding ... [2] The role of epigenetics in idiopathic ... [3] Epigenetics, spermatogenesis and ... [4] DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b ... [5] Characterization of bifurcating structure of blood vessels using fractal dimension [6] A Suv39h-dependent mechanism for silencing ... [7] Functional dynamics of H3K9 methylation ... [8] The novel BORIS + CTCF gene family is ... [9] BORIS, a novel male germ-line-specific ... [10] Emery and Rimoin's principles and ... [11] Epigenetic regulation in male ... [12] Epigenetics and male reproduction ... [13] Protamines and male ... [14] Factors affecting nucleosome disassembly ... [15] Vertebrate protamine genes and the ... [16] Epigenetics and its role in ... [17] Analysis and significance of mRNA in human ejaculated ... [18] MTHFR promoter hypermethylation in ... [19] Idiopathic male infertility is strongly ... [20] Strain-specific defects in testicular development ... [21] Widespread epigenetic abnormalities ... [22] Oxidative stress and sperm ... [23] Idiopathic male infertility is ... [24] Alterations in sperm DNA ... [25] Aberrant DNA methylation of ... [26] Timing of establishment of paternal ... [27] Silencing of unpaired chromatin and ... [28] Histone demethylase JHDM2A is critical ... [29] Spermiogenesis and exchange of basic ... [30] Protamine Levels vary between ... [31] Comparison of Protamine 1 to ... [32] Absence of nerve growth factor ... [33] Differential expression of VASA ... [34] A survey of small RNAs ... [35] MicroRNAs in the testis: Building ... [36] Oncomirs - microRNAs with a role ... [37] The miR-18a member of Oncomir-1, targets ... [38] MicroRNA expression detected by ... [39] MicroRNA Mirn122a reduces expression ... [40] Translational repression of E2F1 mRNA ... [41] Presence and characterization of ... [42] Biogenesis and germline functions ... [43] Loss of the Suv39h histone ... [44] The histone 3 lysine 4 methyltransferase ... [45] A histone H3 methyltransferase ... [46] KDM1B is a histone H3K4 demethylase ... [47] UBR2 mediates transcriptional silencing ... [48] RNF8-dependent histone modifications regulate ... [49] Lsh is required for meiotic chromosome synapsis and retrotransposon ... [50] Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal ... [51] Role of the Dnmt3 family in de novo methylation of imprinted and repetitive sequences during male ... [52] Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon ... [53] MIVI, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic ... [54] MIWI2 is essential for spermatogenesis and repression of transposons ... [55] The first bromodomain of Brdt, a testis-specific member of the BET sub-family ... [56] Fetal origins of adult disease: Strength of effects and biological ...

نقش اپی‌ژنتیک در ناباروری مردان

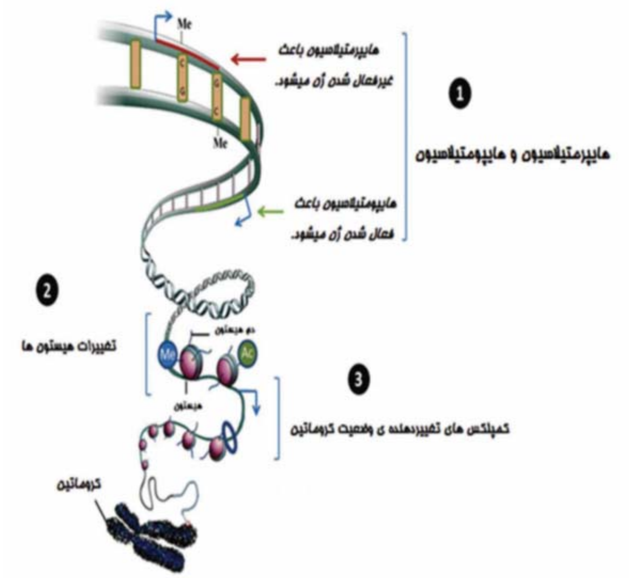
تارا اخترخاوری MSc
پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران
فرخنده بهجتی* PhD
"مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم"و "پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم" و "مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی"، تهران، ایران

چکیده
مقدمه: ناباروری مردان یک حالت پیچیده بالینی است که عوامل اپی‌ژنتیک نیز در ایجاد آن دخیل هستند. این مطالعه مروری به‌منظور گردآوری تغییرات اپی‌ژنتیک در مردان نابارور انجام شد. بنابراین بیش از ۵۰ مقاله مندرج در پایگاه اطلاعات علمی PubMed بررسی شدند. کلیه مقالات تا تیر ۱۳۹۵، با کلمه‌های کلیدی اپی‌ژنتیک، اپی‌موتاسیون و اپی‌داروها همراه با کلمه ناباروری مورد بررسی قرار گرفت.
نتیجه‌گیری: مطالعات اخیر تاثیر فاکتورهای اپی‌ژنتیک متعددی را در ایجاد ناباروری در مردان آشکار ساخته است که شامل تغییرهای هیستون‌ها، نقص در کمپلکس‌های تغییردهنده وضعیت کروماتین و تغییر متیلاسیون در پروموتر ژن‌های مختلف هستند. در حال حاضر، درمان‌های در دسترس، پاسخگوی تمام مردان نابارور نیستند و این امر به‌خصوص در مورد ناباروری ایدیوپاتیک حایز اهمیت است. با توجه به نقش اپی‌ژنتیک در ناباروری مردان، شناخت مکانیزم‌های اپی‌ژنتیک، ما را قادر به ساخت اپی‌داروهایی می‌کند که در آینده‌ای نه‌چندان دور، می‌توانند در درمان ناباروری مورد استفاده قرار گیرند.
کلیدواژه‌ها: ناباروری مردان، اپی‌ژنتیك، ژنتیک، الیگواسپرمی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۲۹
*نویسنده مسئول: fbehjati@gmail.com

مقدمه

ناباروری مردان یک حالت پیچیده بالینی است که علل متنوعی چون اشکال در آناتومی، عفونت‌ها، آسیب در اثر ضربه، بی‌نظمی‌های اندوکراین، مشکلات سیستم ایمنی و نقص‌های ژنتیکی را شامل می‌شود. تاکنون پیرامون نقش ژنتیک در ناباروری مردان مطالعات فراوانی صورت گرفته است و تخمین زده می‌شود که عوامل ژنتیکی باعث ایجاد ۳۰-۱۵% ناباروری‌های مردان هستند[1]. به‌طور مثال، ناهنجاری‌های کروموزومی نظیر سندروم کلاین‌فلتر، ناهنجاری‌های ساختاری کروموزوم نظیر ترانس‌لوکاسیون‌های رابرتسونی، حذف‌ها و ریزحذف‌های کروموزوم Y، جهش‌های AZF، بیماری سیستیک‌فایبروزیس، جهش در ژن‌های بسیاری مانند AR، KAL-1، LGRS، MTHFR، SHBG، ESR، FSHR، LHR، USP26، TAF7L و همچنین جهش در ژن‌های میتوکندریایی[1] شماری از عوامل ژنتیکی هستند که منجر به ناباروری در مردان می‌شوند. از طرفی دیگر، درمان‌های در دسترس، پاسخگوی تمام بیماران نیست و چیزی در حدود ۲۰-۱۵% مردان را به‌عنوان افراد نابارور ایدیوپاتیک معرفی می‌کنند. ناباروری‌های ایدیوپاتیک در مردان، به بیماران ناباروری اطلاق می‌شود که سابقه پزشکی قبلی نداشته و آنالیز مایع منی آنان نیز طبیعی است. یکی از علل ایجاد این نوع ناباروری اختلالات اپی‌ژنتیک هستند که در مقایسه با سایر عوامل به‌تازگی به اهمیت آنها پی برده شده است[2]. پیشرفت‌های اخیر در تکنولوژی، انسان را قادر ساخته تا به مطالعه نقش اپی‌ژنتیک در ناباروری مردان بپردازد. تغییرات اپی‌ژنتیک نیز مجموعه عواملی هستند که روی بیان ژن‌ها اثر می‌گذارند، اما روی توالی DNA اثری ندارند. مکانیزم‌های اصلی اپی‌ژنتیک به شرح زیر هستند (شکل ۱)[3]:



شکل ۱) مکانیزم‌های اصلی اپی‌ژنتیک

۱- هایپرمتیلاسیون و هایپومتیلاسیون

مهم‌ترین مکانیزم در بین سایر عوامل اپی‌ژنتیک، هایپرمتیلاسیون و هایپومتیلاسیون DNA است. تعداد زیادی از ژن‌های انسانی در نزدیک ناحیه پروموتر خود حاوی جزایر CpG هستند. هایپرمتیلاسیون این نواحی باعث سرکوب بیان ژن و هایپومتیلاسیون این نواحی باعث بیان ژن می‌شود. ژن‌های زیادی در تنظیم این فرآیند دخیل هستند که کاندید خوبی برای مطالعه ناباروری اپی‌ژنتیک مردان هستند (جدول ۱)[3-9].

جدول ۱) شماری از مهم‌ترین ژن‌های دخیل در تنظیم فرآیند اپی‌ژنتیک

ژن	عملکرد
MTHFR	حفاظت از ذخیره پیش‌سازهایی که گروه متیل را فراهم می‌کنند.
DNMT1 DNMT3A DNMT3B	آنزیم‌های اصلی در متیلاسیون DNA
DNMT3L	برای عملکرد صحیح DNMT3A مورد نیاز است.
Suv39h1	دخیل در متیلاسیون هیستون‌ها
G9a	دخیل در متیلاسیون هیستون‌ها
CTCF	دارای تعامل با نواحی متیله
BORIS	دارای تعامل با انواع دمتیلازها

۲- تغییرات هیستون‌ها

تغییرات پس از ترجمه در هیستون‌ها در عملکرد صحیح سلول‌ها بسیار اهمیت دارند. ناحیه N- ترمینال هیستون‌ها برای انجام صحیح فرآیندهای سلولی، میتوز و اسپرماتوژنز بسیار مهم است. N- ترمینال حاوی اسیدآمینه‌هایی است که می‌توانند مورد متیلاسیون، استیلاسیون، فسفوریلاسیون و یوبی‌کوییتیلیشن قرار گیرند. به مجموعه اطلاعاتی که از این طریق تبادل می‌شود کد هیستونی می‌گویند[10]. استیلاسیون، مونومتیلاسیون، دی‌متیلاسیون و تری‌متیلاسیون لایزین‌ها و فسفوریلاسیون سرین‌ها شماری از این تغییرات متداول هستند. آنزیم‌هایی مانند هیستون‌استیل‌تراسفرازها، ستون‌متیل‌ترانسفرازها، هیستون‌کینازها، هیستون‌داستیلازها، هیستون‌دِمتیلازها و هیستون‌فسفاتازها شماری از این تغییرات متداول هستند. براساس این که کدام نوع

تغییر انجام شود کروماتین در گروه هتروکروماتین و یوکروماتین قرار می‌گیرد. در هتروکروماتین‌ها نواحی‌ای وجود دارند که به‌دلیل فشردگی زیاد فعال نیستند. یوکروماتین‌ها نیز بخش‌هایی هستند که فشردگی کمتری داشته و در نتیجه از نظر رونویسی فعال هستند. هتروکروماتین خود به دو قسمت تقسیم می‌شود؛ اول هتروکروماتین ساختمانی که قابل تبدیل‌شدن به یوکروماتین نیست و دوم هتروکروماتین اختیاری که قابلیت تبدیل به یوکروماتین را دارد. شماری از تغییرات هیستونی در نواحی یوکروماتین و هتروکروماتین ذکر شده است (جدول ۲)[10].

جدول ۲) شماری از تغییرات هیستونی در نواحی یوکروماتین و هتروکروماتی

اسیدآمینه در هیستون	هتروکروماتین ساختمانی	هتروکروماتین اختیاری	یوکروماتین
H3K4			تری‌متیله و مونومتیله
H3K9	تری‌متیله	دی‌متیله	استیله
H3K27		تری‌متیله	
H4R3			متیله
H4K5			استیله
H4K12	استیله	استیله	
H4K20	تری‌متیله		مونومتیله

۳- کمپلکس‌های تغییردهنده وضعیت کروماتین

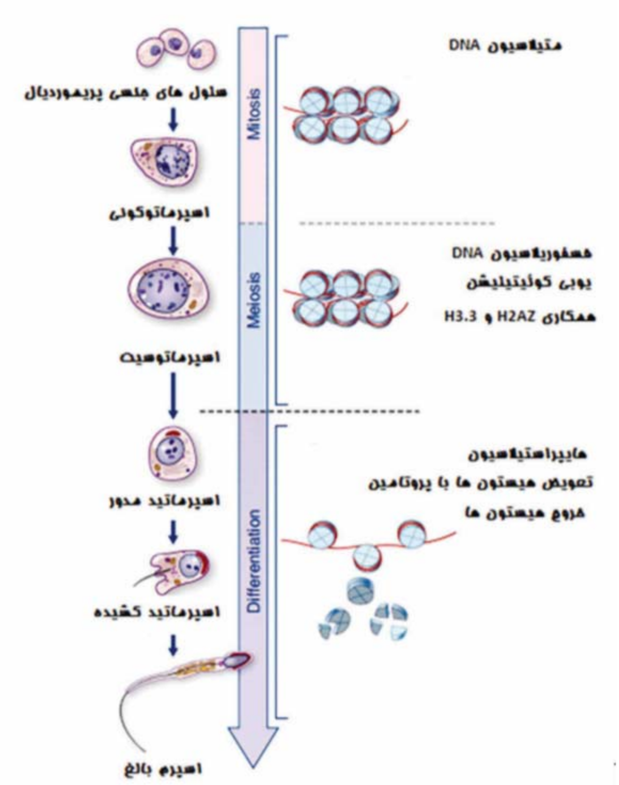
این کمپلکس‌ها با استفاده از انرژی حاصل از هیدرولاز ATP می‌توانند ساختار یا مکان نوکلئوزوم‌ها را روی DNA تغییر دهند که توسط این مکانیزم، ژن‌ها می‌توانند بیشتر در دسترس رونویسی قرار گیرند یا به‌طور کامل از دسترس رونویسی خارج شوند (جدول ۳)[10-11].

جدول ۳) تعدادی از کمپلکس‌های تغییردهنده وضعیت کروماتین

بخش مرتبط با هیستون	بخش ATPase	تعداد زیر واحدها	نام کمپلکس	خانواده کمپلکس
BAF155	BRG1/BRM	۱۰	BAF	SWI/SNF
BPTF	SNF2L	۴	NuRF	ISWI
--	SNF2H	۳	CHRAC	ISWI
ACF1	SNF2H	۲	ACF	ISWI
HDAC1/2	CHD3/4	۶	NuRD	CHD
TIP60	DOMINO	۱۵	TIP60	IN080

رخدادهای اپی‌ژنتیک در حین اسپرماتوژنز

طی تولید سلول‌های جنسی، برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیک در این سلول‌ها اتفاق می‌افتد. این به این معنی است که علایم اپی‌ژنتیک یک‌بار در این مرحله پاک شده و بعد با توجه به جنسیت فرد دوباره جای‌گذاری می‌شوند. در هر مرحله از اسپرماتوژنز، اتفاقات خاص اپی‌ژنتیک رخ می‌دهند. به‌عنوان مثال سلول‌های جنسی پریموردیال تحت دمتیلاسیون DNA و هیستون‌ها قرار می‌گیرند تا نواحی جای‌گذاری‌شده پاک شوند. پاک‌سازی متیلاسیون هیستون به‌خصوص در H3K4 و H3K9 دارای اهمیت فراوانی است. در همین مرحله هیستون H4 نیز دِاستیله و از طرفی ژن‌های DNMT3A، DNMT3B و DNMT3L بیان می‌شوند. در اسپرماتوگونی، متیلاسیون مجدد پدری رخ می‌دهد و در اسپرماتوسیت نیز متیلاسیون H3K9 و H3K4 دیده می‌شود. در مرحله بعد، در اسپرماتیدهای مدور هایپراستیلاسیون H4 صورت گرفته و ژن DNMT1 بیان می‌شود. همچنین در این مرحله هیستون‌ها با پروتئین‌های موقت تعویض می‌شوند. در اسپرماتیدهای کشیده نیز در حالی که وضعیت متیلاسیون حفظ می‌شود، H3K9 دمتیله‌شدن و تعویض پروتامین‌ها با پروتئین‌های موقت اتفاق افتاده و در نهایت در اسپرماتوزوآ جای‌گذاری ژنومی، دارای ثبات خواهد شد[12]. به‌طور کلی این فرآیند باعث فعال‌سازی یا سرکوب بیان ژن‌هایی می‌شود که عملکرد صحیح آنها در فرآیند تکوین و بلوغ گامت‌ها نقش دارد. نکته جالب در مورد اسپرماتوژنز این است که به‌هنگام بسته‌بندی مجدد کروماتین، ۸۵% هیستون‌ها با پروتامین جایگزین می‌شوند[13] و نیز واردشدن پروتامین‌ها به کروماتین اسپرم باعث فشرده‌سازی DNA می‌شود که این فرآیند برای اسپرماتوژنز بسیار حیاتی است[14, 15]. این مراحل به‌طور خلاصه نمایش داده شده است (شکل ۲)[16].



شکل ۲) رخدادهای اپی‌ژنتیک حین اسپرماتوژنز

ارتباط بین انواع RNAها و ناباروری مردان

تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که اسپرم افراد نابارور در مقایسه با افراد بارور تغییرات قابل ملاحظه‌ای در انواع RNA دارد[17]. از جمله این تغییرات می‌توان به تغییر در mRNA، miRNA و piRNA اشاره کرد.

این مطالعه روی بیش از ۵۰ مقاله مندرج در پایگاه اطلاعات علمی Pubmed انجام شد. کلیه مقالات تا ابتدای تیرماه ۱۳۹۵ توسط کلیدواژه‌های اپی‌ژنتیک، اپی‌موتاسیون، علم اپی‌ژنتیک، اپی‌ژنتیک و اپی‌داروها، ناباروری مردان، آزواسپرمی و الیگواسپرمیا بررسی شدند.

برای هر مکانیزم اپی‌ژنتیک، تغییرات متعددی مرتبط با ناباروری گزارش شده که شامل موارد زیر است:

۱- تغییرات متیلاسیون مرتبط با ناباروری مردان

برای ژن‌های مختلف تغییرات متعددی گزارش شده‌اند که در زیر ذکر شده‌اند[3, 5, 18-26]:

MTHFR: مهم‌ترین ژن در مکانیزم متیلاسیون است که در مطالعات متعدد مرتبط با ناباروری گزارش شده است. ابتدا هایپرمتیلاسیون پروموتر این ژن را با ایجاد پارامترهای اسپرم ضعیف در مایع منی انسان مرتبط دانستند[3]. در مطالعه‌ای دیگر، مردان مبتلا به آزواسپرمی غیرانسدادی را با مردان دارای آزواسپرمی انسدادی مقایسه کردند و متوجه شدند هایپرمتیلاسیون پروموتر MTHFR فقط در افراد با آزواسپرمی غیرانسدادی وجود داشته است[18]. *واو* و همکاران نیز نشان داده‌اند که هایپرمتیلاسیون این ژن در ایجاد ناباروری ایدیوپاتیک مردان دخیل است[19]. در مطالعه‌ای دیگر، *چن* و همکاران نیز هایپرمتیلاسیون این ژن را مرتبط با کیفیت پایین مایع منی و ناباروری مردان معرفی کردند[20].

SFN: *راجندر* و همکاران هایپرمتیلاسیون پروموتر این ژن را با ایجاد پارامترهای ضعیف در مایع منی در انسان گزارش کرده‌اند[3]. از طرفی، *هوشداران* و همکاران هایپرمتیلاسیون همین ژن را با غلظت پایین اسپرم در مایع منی مرتبط دانسته و اذعان داشتند این فرآیند روی ریخت‌شناسی و تحرک اسپرم‌ها نیز اثر منفی دارد[21].

MEST ،IGF2 ،H19: ابتدا متیلاسیون غیرطبیعی H19 و MEST که هر دو حک‌گذاری می‌شوند با الیگواسپرمی گزارش شدند[22]. طی مطالعه‌ای دیگر، مردان بارور و نابارور با هم مقایسه شدند و نشان داده شد سه لوکوس H19، IGF2 و MEST که حک‌گذاری می‌شوند در افراد نابارور الگوی متیلاسیون غیرعادی داشته‌اند[23]. در مطالعات، مشخص شده است هایپرمتیلاسیون IGF2 و H19 با غلظت پایین اسپرم در مایع منی ارتباط دارد[23]. طی مطالعه‌ای دیگر که توسط *هوشداران* و همکاران انجام شد، دیده شد MEST با ایجاد پارامترهای اسپرم ضعیف در مایع منی مرتبط است[21]. در مورد این سه لوکوس گزارشات کمی دچار تناقض هستند. مثلاً طی مطالعه‌ای نشان داده شده است که این سه لوکوس در بعضی افراد بارور هایپرمتیله و در بعضی هایپومتیله بوده‌اند[23].

LIT1: *راجندر* و همکاران نشان داده‌اند که هایپرمتیلاسیون پروموتر LIT1 در انسان با ایجاد پارامترهای اسپرم ضعیف ارتباط دارد[3] و در مطالعه‌ای دیگر نشان دادند که الگوی متیلاسیون جزایر CpG در مورد این ژن در افراد نابارور الگویی متفاوت دارد[24].

PLAG1 ،SNRPN: ابتدا، الگوی متیلاسیون غیرعادی این دو ژن در بین افراد نابارور گزارش شد[24] و در مطالعه‌ای دیگر، هایپرمتیلاسیون آنها با ایجاد پارامترهای اسپرم ضعیف مرتبط دانسته شد[3, 24].

D1RAS3 ،RASGRF1 ،KCNQ1 ،GTL2: گزارشات متفاوتی از هایپرمتیلاسیون پروموتر این چهار ژن در ارتباط با ایجاد پارامترهای ضعیف اسپرم ارایه شده است[26 ,24 ,21 ,3].

PAX8: هایپرمتیلاسیون این ژن با غلظت پایین اسپرم در مایع منی ارتباط داشته و روی ریخت‌شناسی و تحرک اسپرم‌ها نیز اثر منفی می گذارد[21]. همچنین هایپرمتیلاسیون پروموتر آن را با ایجاد پارامترهای ضعیف اسپرم مرتبط دانسته‌اند[3].

PAX8: *راجندر* و همکاران هایپرمتیلاسیون پروموتر این ژن را با ایجاد پارامترهای ضعیف اسپرم مرتبط اعلام کرده‌اند[3].

NTF3: *چان* و همکاران، هایپرمتیلاسیون این ژن را با غلظت پایین اسپرم در مایع منی مرتبط دانسته‌اند و اعلام کردند هایپرمتیلاسیون این ناحیه روی ریخت‌شناسی و تحرک اسپرم‌ها اثر منفی دارد[3].

۲- تغییرات هیستونی که با ناباروری مردان ارتباط دارند

مطالعه روی موش‌ها، نقش حیاتی Jhmd2a را طی فرآیند اسپرماتوژنز آشکار کرد. در این مطالعه مشخص شد که این هیستون دمتیلاز در تنظیم بیان دو ژن به نام‌های Prm1 و Tnp1 دخیل است که این دو ژن در بسته‌بندی صحیح کروماتین در اسپرم دخیل هستند[27, 28].

۳- ارتباط بین تغییر وضعیت کروماتین و ناباروری مردان

مشخص است که پروتامین‌ها قبل از اتصال به DNA فسفوریله می‌شوند و همزمان با بلوغ نوکلئوپروتامین‌ها مجدد دفسفوریله می‌شوند. Camk4 پروتئینی است که پروتامین نوع دو را فسفوریله می‌کند. جهش در این پروتئین باعث اسپرماتوژنز معیوب و ناباروری در مردان می‌شود[29]. از آنجا که پروتامین‌های نوع یک و نوع دو برای عملکرد اسپرم حیاتی هستند، حالت نیمه ناکافی برای این دو ژن، ساختار کروماتین را غیرطبیعی می‌کند، به DNA آسیب وارد شده و این وقایع باعث ایجاد ناباروری می‌شوند[3]. علاوه بر این نشان داده شده است که نسبت پروتامین نوع یک به پروتامین نوع دو نیز بسیار مهم است[30]. این نسبت در مردان بارور بین ۰/۸ تا ۱/۲ است و انحراف از این مقدار باعث ایجاد ناباروری می‌شود. این انحرافات روی کیفیت مایع منی و حفظ ثبات DNA نیز اثر می‌گذارد و کاهش این تناسب باعث ایجاد غلظت پایین اسپرم در مایع منی و تغییر در حرکت و ریخت‌شناسی آن می‌شود[30, 31].

۴- تغییرات RNA در ناباروری مردان

الف) تغییرات mRNA: مطالعات نشان داده‌اند HSPA2 که در بلوغ اسپرم‌ها و عملکرد آنها نقش دارد، طی اسپرماتوژنز در افرادی که تعداد اسپرم کم با تحرک پایین و شکل غیرطبیعی دارند، به مقدار بسیار بیشتری یافت شده است[32]. mRNA مختص BDNF نیز در افرادی که اسپرم کم با تحرک پایین دارند، کمتر از افراد با اسپرم طبیعی تولید می‌شود. GP130 که به IL-6 متصل می‌شود و در تحرک اسپرم نقش دارد، میزان بالای mRNA آن در مردان با تحرک بسیار پایین اسپرم گزارش شده است. در افراد الیگواسپرم رونوشت‌های DDX4 و VASA که برای تکوین رده جنسی ضروری هستند، مقدار کمی را گزارش کرده است[33].

ب) تغییرات miRNA در اسپرم: اسپرم انسان دارای ۷% miRNA و ۱۷% piRNA است[34]. این RNAهای کوچک بیان ژن را در سطح رونویسی، پسارونویسی و طی تغییر وضعیت کروماتین، تنظیم می‌کنند[35] و تاکنون مشخص شده که یک‌سوم از ژن‌های انسان توسط miRNA تنظیم می‌شوند[36]. از نظر تعداد، بیش از ۲۰۰miRNA در اسپرم انسان یافت شده که این تعداد بالا، خود بیانگر نقش بسیار مهم این نوع RNA در مورفوژنز و بلوغ اسپرم است[10]. شماری از miRNAهایی که با ناباروری در مردان مرتبط هستند در ادامه توضیح داده شده‌اند؛ به‌عنوان مثال در موش miR-18، miRNA است که برای اسپرماتوژنز طبیعی مورد نیاز است[37]. miR-34c و miRNA34b نیز در تولید سلول‌های جنسی طی اسپرماتوژنز نقش بازی می‌کنند[38]. مورد دیگر، miR-122 است که RNA است و یک ژن به نام Tnp2 را تنظیم می‌کند. این ژن مختص بافت بیضه بوده و گمان می‌رود در عملکرد کمپلکس‌های تغییردهنده وضعیت کروماتین طی اسپرماتوژنز در بیضه دخیل

است[39]. خوشه miR-17-92 نیز در تنظیم آپوپتوز در فرآیند اسپرماتوژنز موثر است[40]. نکته قابل توجه این که وجود جهش‌ها نظیر حذف‌ها در ماشین پردازش miRNA که شامل Dicer و Drosha است، می‌تواند منجر به بروز اشکال در اسپرماتوژنز و ناباروری شود. روش تشخیص و بررسی miRNA در مایع منی RT-qPCR بوده و اساس آن روی این فرضیه استوار است که این نوع RNA طی آپوپتوز از سلول‌های رده جنسی به داخل مایع منی ریخته می‌شوند[41].

ج) ارتباط piRNA و ناباروری مردان: این نوع RNA بزرگ‌ترین و پیچیده‌ترین کلاس RNA است که به‌تازگی کشف شده است. این دسته از RNA در سلول به پروتئین ترجمه نمی‌شوند. تعدادی از آنها مانند HIWI، PRG-1، MIWI2، MIW وpiRNA. PRG-2 در مرحله پاکی‌تن اسپرماتوسیت‌ها تولید شده و مطالعات روی موش‌ها نشان داده است که محافظت از سلول‌های رده جنسی در برابر ترانسپوزون‌ها را بر عهده دارند[42]. به‌طور کلی برای برخی از تنظیم‌کننده‌های اپی‌ژنتیک دخیل در گامتوژنز پستانداران، آزمایشاتی روی مدل موشی انجام شده است (جدول ٤)[7, 43-55].

جدول ٤) نتایج آزمایشات غیرفعال‌سازی تنظیم‌کنندگان اپی‌ژنتیک دخیل در گامتوژنز پستانداران

پروتئین	نتیجه غیرفعال‌سازی در مدل موشی
KMTIA /KMTIB	ایجاد اختلال در میوز، ایجاد ناباروری به خصوص در موش نر
KMTIC	ایجاد اختلال در میوز، ناباروری در موش نر و ماده
KMT2B	ناباروری موش نر و ماده
PRDM9	توقف میوز، ناباروری موش نر و ماده
KDMIB	اختلال در ایجاد حک‌گذاری‌های مادری
KDM3A	اختلال در فشردگی کروماتین پس از میوز و ناباروری موش نر
UBR2	ایجاد اختلال در میوز، ناباروری موش نر
RNF8	اختلال در تعویض هیستون پروتامین، ناباروری موش نر
HR6B	ناباروری موش نر
LSH	اختلال در میوز، ناباروری موش ماده
DNMT3A	اشکال در حک‌گذاری، ناباروری موش نر و ماده
DNMT3L	اشکال در حک‌گذاری، ناباروری موش نر و ماده
MILI	توقف میوز، ناباروری موش نر و ماده
MIWI	اختلال در تکوین اسپرم، ناباروری در موش نر
MIWI2	توقف میوز، ناباروری موش نر و ماده
BRDT	ایجاد اسپرم غیرطبیعی، ناباروری موش نر

اثر تکنولوژی کمک‌باروری بر پروفایل اپی‌ژنتیک

مطالعه روی انسان و موش نشان داده است که اووسیت‌هایی که توسط القای هورمون گرفته شده‌اند و همچنین جنین‌هایی که در لوله آزمایش ایجاد شده‌اند، از نظر بیان ژن و الگوی متیلاسیون متفاوت هستند[10]. به‌طور مثال می‌توان به ازدست‌رفتن متیلاسیون ناحیه متفاوت متیله‌شده مادری MEST/PEG1 روی ناحیه کروموزومی 7q33 و همچنین کسب متیلاسیون در ناحیه متفاوت متیله‌شده مادری H19 روی ناحیه کروموزومی 11p15.5 در اووسیت‌ها اشاره کرد[10].

تعدادی از مطالعات اخیر نیز نشان داده‌اند که شیوع ناهنجاری‌های اپی‌ژنتیک در میان کودکان حاصل از تکنولوژی کمک‌باروری بیشتر از کودکانی بوده است که حاصل یک باروری طبیعی بوده‌اند[10]. این افزایش شیوع برای سندروم آنجلمن با نسبت شانس ٦ تا ١٢ و برای سندروم بک‌وید- وایدمن با نسبت شانس ٦ تا ١٧ گزارش شده است. نکته جالب در مورد این دو سندروم آن است که در هر دوی این بیماری‌ها اشکال در نشان‌گذاری آلل مادری رخ می‌دهد[10]. در میان این دسته از کودکان، ازدست‌رفتن متیلاسیون در ناحیه متفاوت متیله‌شدن مادری در 15q11 برای سندروم آنجلمن ۸برابر بیشتر و برای سندروم بک‌وید- وایدمن در 11p15، ۱/۹برابر بیشتر از باروری‌های طبیعی دیده شده است[10]. نکته جالب در مورد مطالعات اپی‌ژنتیک آن است که شرایط محیطی نیز می‌توانند باعث ایجاد این نوع تغییرات در جنین انسان شوند. این فرضیه اولین‌بار توسط *دیوید بارکر* پیشنهاد شد. وی بیان کرد که استرس‌های دوران بارداری در مادر نظیر تغذیه نامناسب، قرارگیری در معرض مواد سمی و نیز استرس‌های فیزیولوژیک می‌توانند تغییرات پایدار اپی‌ژنتیک را در جنین القا کنند و ممکن است این تغییرات بعدها در بیماری‌های قلبی عروقی، متابولیک و روانی خود را نشان دهند[56].

تا سال‌ها نقش عوامل اپی‌ژنتیک در بروز ناباروری و همچنین اثر روش‌های کمک‌باروری بر الگوی اپی‌ژنتیک جنین مورد توجه واقع نمی‌شد، اما در سال‌های اخیر مشخص شده است که عوامل اپی‌ژنتیک یکی از عوامل مهم و قابل سنجش در ناباروری مردان هستند و لذا باید این عوامل مورد بررسی وسیع‌تر قرار گرفته و در روش‌های تشخیص ناباروری مردان گنجانده شوند. از طرفی امروزه آشکار است که تحریک تخمک‌گذاری مصنوعی که به‌عنوان مرحله‌ای از درمان ناباروری است با بی‌نظمی‌های نشان‌گذاری در آلل‌های پدری و آلل‌های مادری ارتباط دارد، اما هنوز مشخص نیست که اشکالات اپی‌ژنتیک، خود عاملی در ایجاد ناباروری هستند یا آن که عارضه تحریک تخمک‌گذاری مصنوعی هستند. از این رو مطالعات بیشتری نیاز است تا میزان شیوع دقیق ناهنجاری‌های اپی‌ژنتیک در میان کودکان حاصل از لقاح مصنوعی مشخص شود و همچنین اثر لقاح مصنوعی بر الگوی اپی‌ژنتیک جنین مورد تفحص قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در حال حاضر، روش‌های تشخیص علت ناباروری و نیز درمان‌های در دسترس، پاسخگوی تمام موارد ناباروری مردان نیست. عوامل اپی‌ژنتیک از عواملی هستند که در ایجاد این نوع ناباروری دخیل دانسته شده‌اند. به همین منظور باید برای بررسی افراد نابارور این جنبه نیز مد نظر قرار گیرد. از این گذشته، به‌دلیل پویابودن الگوی اپی‌ژنتیک، تصحیح این عوامل بسیار راحت‌تر از تصحیح ژنتیک افراد است. لذا مطالعه هر چه بیشتر این عوامل در آینده‌ای نه‌چندان دور، ما را قادر به ساخت اپی‌داروهایی برای تصحیح فرآیندهای اپی‌ژنتیک در افراد نابارور خواهد ساخت.

تشکر و قدردانی: از کلیه افرادی که در نگارش این مقاله به ما یاری رساندند، کمال تشکر را داریم.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

منابع مالی: مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم منابع مالی این پژوهش را تامین نموده است.

سهم نویسندگان: تارا اخترخاوری (نویسنده اول)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۵۰%)؛ فرخنده بهجتی (نویسنده دوم)، نگارنده مقاله/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۵۰%)

منابع

1- Tahmasbpour E, Balasubramanian D, Agarwal A. A multi-faceted approach to understanding male infertility: Gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART). J Assist Reprod Genet. 2014;31(9):1115-37.

2- Gunes S, Arslan MA, Hekim GN, Asci R. The role of epigenetics in idiopathic male infertility. J Assist Reprod Genet. 2016;33(5):553-69.

3- Rajender S, Avery K, Agarwal A. Epigenetics, spermatogenesis and male infertility. Mutat Res. 2011;727(3):62-71.

4- Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. Cell. 1999;99(3):247-57.

5- Nimura K, Ishida C, Koriyama H, Hata K, Yamanaka S, Li E, et al. Dnmt3a2 targets endogenous Dnmt3L to ES cell chromatin and induces regional DNA methylation. Genes Cells. 2006;11(10):1225-37.

6- Ait-Si-Ali S, Guasconi V, Fritsch L, Yahi H, Sekhri R, Naguibneva I, et al. A Suv39h-dependent mechanism for silencing S-phase genes in differentiating but not in cycling cells. Eur Mol Biol Organ J. 2004;23(3):605-15.

7- Tachibana M, Nozaki M, Takeda N, Shinkai Y. Functional dynamics of H3K9 methylation during meiotic prophase progression. Eur Mol Biol Organ J. 2007;26(14):3346-59.

8- Klenova EM, Morse HC, 3rd, Ohlsson R, Lobanenkov VV. The novel BORIS + CTCF gene family is uniquely involved in the epigenetics of normal biology and cancer. Semin Cancer Biol. 2002;12(5):399-414.

9- Loukinov DI, Pugacheva E, Vatolin S, Pack SD, Moon H, Chernukhin I, et al. BORIS, a novel male germ-line-specific protein associated with epigenetic reprogramming events, shares the same 11-zinc-finger domain with CTCF, the insulator protein involved in reading imprinting marks in the soma. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(10):6806-11.

10- Rimoin DL, Pyeritz RE, Korf B. Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics. Amsterdam: Elsevier Science; 2013.

11- Zamudio NM, Chong S, O'Bryan MK. Epigenetic regulation in male germ cells. Reproduction. 2008;136(2):131-46.

12- Stuppia L, Franzago M, Ballerini P, Gatta V, Antonucci I. Epigenetics and male reproduction: The consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. Clin Epigenetics. 2015;7:105-20.

13- Oliva R. Protamines and male infertility. Hum Reprod Update. 2006;12(4):417-35.

14- Oliva R, Bazett-Jones D, Mezquita C, Dixon GH. Factors affecting nucleosome disassembly by protamines in vitro. Histone hyperacetylation and chromatin structure, time dependence, and the size of the sperm nuclear proteins. J Biol Chem. 1987;262(35):17016-25.

15- Oliva R, Dixon GH. Vertebrate protamine genes and the histone-to-protamine replacement reaction. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol. 1991;40:25-94.

16- Dada R, Kumar M, Jesudasan R, Fernández JL, Gosálvez J, Agarwal A. Epigenetics and its role in male infertility. J Assist Reprod Genet. 2012;29(3):213-23.

17- Lambard S, Galeraud-Denis I, Martin G, Levy R, Chocat A, Carreau S. Analysis and significance of mRNA in human ejaculated sperm from normozoospermic donors: Relationship to sperm motility and capacitation. Mol Hum Reprod. 2004;10(7):535-41.

18- Khazamipour N, Noruzinia M, Fatehmanesh P, Keyhanee M, Pujol P. MTHFR promoter hypermethylation in testicular biopsies of patients with non-obstructive azoospermia: The role of epigenetics in male infertility. Hum Reprod. 2009;24(9):2361-4.

19- Wu W, Shen O, Qin Y, Niu X, Lu C, Xia Y, et al. Idiopathic male infertility is strongly associated with aberrant promoter methylation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). PLoS One. 2010;5(11):e13884.

20- Chan D, Cushnie DW, Neaga OR, Lawrance AK, Rozen R, Trasler JM. Strain-specific defects in testicular development and sperm epigenetic patterns in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase-deficient mice. Endocrinology. 2010;151(7):3363-73.

21- Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, Yang A, Laird PW, Sokol RZ. Widespread epigenetic abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm. PLoS One. 2007;2(12):e1289.

22- Kumar R, Venkatesh S, Kumar M, Tanwar M, Shasmsi MB, Kumar R, et al. Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation in idiopathic oligoasthenozoospermic men. Indian J Biochem Biophys. 2009;46(2):172-7.

23- Poplinski A, Tuttelmann F, Kanber D, Horsthemke B, Gromoll J. Idiopathic male infertility is strongly associated with aberrant methylation of MEST and IGF2/H19 ICR1. Int J Androl 2010;33(4):642-9.

24- Hammoud SS, Purwar J, Pflueger C, Cairns BR, Carrell DT. Alterations in sperm DNA methylation patterns at imprinted loci in two classes of infertility. Fertil Steril. 2010;94(5):1728-33.

25- Kobayashi H, Sato A, Otsu E, Hiura H, Tomatsu C, Utsunomiya T, et al. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. Hum Mol Genet. 2007;16(21):2542-51.

26- Li JY, Lees-Murdock DJ, Xu GL, Walsh CP. Timing of establishment of paternal methylation imprints in the mouse. Genomics. 2004;84(6):952-60.

27- Baarends WM, Wassenaar E, van der Laan R, Hoogerbrugge J, Sleddens-Linkels E, Hoeijmakers JH, et al. Silencing of unpaired chromatin and histone H2A ubiquitination in mammalian meiosis. Mol Cell Biol. 2005;25(3):1041-53.

28- Okada Y, Scott G, Ray MK, Mishina Y, Zhang Y. Histone demethylase JHDM2A is critical for Tnp1 and Prm1 transcription and spermatogenesis. Nature. 2007;450(7166):119-23.

29- Wu JY, Ribar TJ, Cummings DE, Burton KA, McKnight GS, Means AR. Spermiogenesis and exchange of basic nuclear proteins are impaired in male germ cells lacking Camk4. Nat Genet. 2000;25(4):448-52.

30- Aoki VW, Emery BR, Liu L, Carrell DT. Protamine Levels vary between individual sperm cells of infertile human males and correlate with viability and DNA integrity. J Androl. 2006;27(6):890-8.

31- Moghbelinejad S, Najafipour R, Hashjin AS. Comparison of Protamine 1 to Protamine 2 mRNA ratio and YBX2 gene mRNA content in testicular tissue of Fertile and Azoospermic Men. Int J Fertil Steril. 2015;9(3):338-45.

32- Li C, Zheng L, Wang C, Zhou X. Absence of nerve growth factor and comparison of tyrosine kinase receptor A levels in mature spermatozoa from

Chromatin. 2009;2(1):5.
45- Hayashi K, Yoshida K, Matsui Y. A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase. Nature. 2005;438(7066):374-8.
46- Ciccone DN, Su H, Hevi S, Gay F, Lei H, Bajko J, et al. KDM1B is a histone H3K4 demethylase required to establish maternal genomic imprints. Nature. 2009;461(7262):415-8.
47- An JY, Kim EA, Jiang Y, Zakrzewska A, Kim DE, Lee MJ, et al. UBR2 mediates transcriptional silencing during spermatogenesis via histone ubiquitination. Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107(5):1912-7.
48- Lu LY, Wu J, Ye L, Gavrilina GB, Saunders TL, Yu X. RNF8-dependent histone modifications regulate nucleosome removal during spermatogenesis. Dev cell. 2010;18(3):371-84.
49- De La Fuente R, Baumann C, Fan T, Schmidtmann A, Dobrinski I, Muegge K. Lsh is required for meiotic chromosome synapsis and retrotransposon silencing in female germ cells. Nat Cell Biol. 2006;8(12):1448-54.
50- Kaneda M, Okano M, Hata K, Sado T, Tsujimoto N, Li E, et al. Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. Nature. 2004;429(6994):900-3.
51- Kato Y, Kaneda M, Hata K, Kumaki K, Hisano M, Kohara Y, et al. Role of the Dnmt3 family in de novo methylation of imprinted and repetitive sequences during male germ cell development in the mouse. Hum Mol Genet. 2007;16(19):2272-80.
52- Aravin AA, Sachidanandam R, Girard A, Fejes-Toth K, Hannon GJ. Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon control. Science. 2007;316(5825):744-7.
53- Deng W, Lin H. MIVI, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis. Dev Cell. 2002;2(6):819-30.
54- Carmell MA, Girard A, van de Kant HJ, Bourc'his D, Bestor TH, de Rooij DG, et al. MIWI2 is essential for spermatogenesis and repression of transposons in the mouse male germline. Dev Cell. 2007;12(4):503-14.
55- Shang E, Nickerson HD, Wen D, Wang X, Wolgemuth DJ. The first bromodomain of Brdt, a testis-specific member of the BET sub-family of double-bromodomain-containing proteins, is essential for male germ cell differentiation. Development. 2007;134(19):3507-15.
56- Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: Strength of effects and biological basis. Int J Epidemiol. 2002;31(6):1235-9.
Oligoasthenozoospermic, Asthenozoospermic and Fertile men. Clin Chim Acta. 2010;411(19-20):1482-6.
33- Guo X, Gui YT, Tang AF, Lu LH, Gao X, Cai ZM. Differential expression of VASA gene in ejaculated Spermatozoa from Normozoospermic men and patients with Oligozoospermia. Asian J Androl. 2007;9(3):339-44.
34- Krawetz SA, Kruger A, Lalancette C, Tagett R, Anton E, Draghici S, et al. A survey of small RNAs in human sperm. Hum Reprod. 2011;26(12):3401-12.
35- Papaioannou MD, Nef S. MicroRNAs in the testis: Building up male fertility. J Androl. 2010;31(1):26-33.
36- Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer. 2006;6(4):259-69.
37- Bjork JK, Sandqvist A, Elsing AN, Kotaja N, Sistonen L. The miR-18a member of Oncomir-1, targets heat shock transcription factor 2 in spermatogenesis. Development. 2010;137(19):3177-84.
38- Barad O, Meiri E, Avniel A, Aharonov R, Barzilai A, Bentwich I, et al. MicroRNA expression detected by oligonucleotide microarrays: System establishment and expression profiling in human tissues. Genome Res. 2004;14(12):2486-94.
39- Yu Z, Raabe T, Hecht NB. MicroRNA Mirn122a reduces expression of the Posttranscriptionally regulated germ cell transition protein 2 (Tnp2) messenger RNA (mRNA) by mRNA cleavage. Biol Reprod. 2005;73(3):427-33.
40- Novotny GW, Sonne SB, Nielsen JE, Jonstrup SP, Hansen MA, Skakkebaek NE, et al. Translational repression of E2F1 mRNA in arcinoma in situ and normal testis correlates with expression of the miR-17-92 cluster. Cell Death Differ. 2007;14(4):879-82.
41- Huang S, Li H, Ding X, Xiong C. Presence and characterization of cell-free seminal RNA in healthy individuals: Implications for noninvasive disease diagnosis and gene expression studies of the male reproductive system. Clin Chem. 2009;55(11):1967-76.
42- Klattenhoff C, Theurkauf W. Biogenesis and germline functions of piRNAs. Development. 2008;135(1):3-9.
43- Peters AH, O'Carroll D, Scherthan H, Mechtler K, Sauer S, Schofer C, et al. Loss of the Suv39h histone methyltransferases impairs mammalian heterochromatin and genome stability. Cell. 2001;107(3):323-37.
44- Glaser S, Lubitz S, Loveland KL, Ohbo K, Robb L, Schwenk F, et al. The histone 3 lysine 4 methyltransferase, Mll2, is only required briefly in development and spermatogenesis. Epigenetics