

## Introducing a new method for long-term storage of sperm without the need for freezing

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Systematic Review

#### Authors

Mahdi Nazari <sup>1\*</sup>, PhD

<sup>1</sup> Ph.D student, Department of Animal Science. Faculty of Agriculture. University of Tabriz. Tabriz, Iran

#### \*Corresponding Author

Address: Department of Animal Science. Faculty of Agriculture. University of Tabriz. Tabriz, Iran  
Phone: +98 09227367798  
Mahdi.na1994@gmail.com

#### Article History

Received: June 09, 2021  
Accepted: June 21, 2021  
e Published: November 21, 2021

### ABSTRACT

Considering that significant progress has been made in the field of cryopreservation and long-term storage of sperm in different species, but this process causes significant damage to the sperm cell. The researchers concluded that with a proper understanding of how sperm is stored in the oviduct, sperm can be stored for longer without freezing. This is in favor of species whose sperm have shorter viability after freezing and can only be stored in liquid conditions for a few days. Compounds called glycans in the epithelium of the oviduct and sperm binding proteins to these glycans are more commonly referred to. In this review, information about sperm storage tanks, the role of these tanks in sperm function, and glycans were studied in mammals from Google Scholar, Pubmed, Andrology, Reproduction of Domestic Animals, and Biology of Reproduction.

By studying these contents, we conclude that in some species, sperm are stored for a long time in the female reproductive system and are able to produce offspring without the presence of males, by carefully studying the mechanisms involved and being inspired by these events, we can succeed in preserving superior genetic resources and preserving the sperm of endangered species without freezing.

**Keywords:** Glycans, Sperm Reservoirs, Oviduct, Cell Binding, Long-Term Storage

**کلید واژه‌ها:** گلیکان، مخازن اسپرم، اویداکت، اتصال سلولی، نگهداری طولانی مدت

## معرفی روشی نوین برای نگهداری طولانی مدت اسپرم‌ها بدون نیاز به انجماد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۳۱

\*نویسنده مسئول: مهدی نظری

مهدی نظری<sup>۱\*</sup>

### مقدمه

ذخیره اسپرم به صورت مایع، یک استراتژی برای کاهش متابولیسم اسپرم است که به حفظ عملکرد اسپرم در حین انجماد کمک می‌کند [۱،۲]. در طیور، نتایج حاصل از عملکرد باروری پس از تلقیح مرغ با اسپرم منجمد، مطلوب نیستند [۳]. این عملکرد باروری ضعیف، بیشتر به خصوصیات غشای پلاسمایی اسپرم خروس نسبت داده می‌شود که باعث می‌شود در هنگام ذخیره‌سازی بصورت منجمد، به آسیب‌های انجمادی حساس‌تر شوند [۴]. انجماد اسپرم، یک روش کلیدی است که کاربردهای تکنیک تولید مثل را برای انسان و حیوان، تسهیل می‌کند. انجماد اسپرم، باعث ایجاد تنش اکسیداتیو<sup>۱</sup> می‌شود که به اسپرم‌ها آسیب می‌رساند و باعث کاهش زنده‌مانی<sup>۱</sup> آنها پس از ذوب می‌شود. در فرایند انجماد اسپرم، بسیاری از عوامل مانند تنش اکسیداتیو و عدم دفاع آنتی اکسیدانی، ممکن است بر کیفیت اسپرم‌ها تأثیر منفی بگذارند. گزارش شده است که انجماد اسپرم باعث کاهش میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها به مقدار ۴۰-۵۰ درصد می‌شود [۵]. در طول انجماد و ذوب شدن، تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر افزایش می‌یابد، که منجر به تغییر وضعیت دفاع آنتی اکسیدانی اسپرم و پلاسما منی می‌شود و بر کیفیت منی و توانایی لقاح اسپرم تأثیر می‌گذارد [۶]. تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و متعاقب آن تنش اکسیداتیو تأثیر عمده‌ای بر کیفیت مایع منی هنگام انجماد و ذوب دارد و در نتیجه باعث کاهش ظرفیت لقاح می‌شود [۷]. همچنین، تغییر ساختاری شدید در بخش‌های مختلف سلول‌های اسپرم پس از انجماد و ذوب مشاهده شده است [۸]. همچنین اسپرماتوزوها را می‌توان برای مدت چند ساعت تا چند روز در مخازن اسپرم دستگاه تولید مثل پستانداران نگهداری کرد و همچنین در نگهداری اسپرم به صورت برون تنی و به حالت مایع بعد از ۲۴ ساعت کیفیت و میزان باروری اسپرم ماهش چشمگیری پیدا می‌کند، این در حالی است که خزندگان می‌توانند بیش از ۱ سال اسپرم را در اویداکت ذخیره کنند [۹]. با مطالعه سازوکارهایی که برای ذخیره طولانی مدت اسپرم‌ها هستند نه تنها برای بهبود درک انتقال سلولی، بلکه برای روشن کردن نیروهایی که در انتخاب جنسی نقش دارند و اکولوژی را شکل می‌دهند نیز می‌تواند مفید باشد [۱۰]. در حال حاضر درباره مکانیسم‌های

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

### چکیده

با توجه به اینکه در زمینه انجماد و نگهداری طولانی مدت اسپرم در گونه‌های مختلف پیشرفت‌های شایان توجهی صورت گرفته است. اما این فرایند آسیب‌های قابل توجهی به سلول اسپرم وارد می‌کند. اخیراً مطالعات انجام شده بر چگونگی ذخیره طولانی مدت اسپرم در برخی از گونه‌ها بدون نیاز به مواد افزودنی خاصی توجه محققین را به خود جلب کرده است. محققین به این نتیجه رسیدند که با درک درست از چگونگی ذخیره اسپرم‌ها در اویداکت می‌توان اسپرم‌ها را برای مدت زمان بیشتری بدون منجمد کردن نگهداری کرد. این به نفع گونه‌هایی است که اسپرم آن‌ها پس از انجماد زنده‌مانی کمتری داشته و فقط برای مدت چند روز در شرایط مایع می‌توان نگهداری کرد. در این میان بیشتر به ترکیباتی تحت عنوان گلیکان‌ها در اپیتلیوم اویداکت و پروتئین‌های اتصال اسپرم به این گلیکان‌ها اشاره شده است. در این مقاله مروری، اطلاعات مربوط به مخازن نگهداری اسپرم‌ها، نقش این مخازن در عملکرد اسپرم و گلیکان‌های شناسایی شده در پستانداران از پایت‌های، Google Scholar, Pubmed, Andrology, Reproduction of Domestic Animals, Biology of Reproduction جمع‌آوری گردید. با مطالعه این مطالب به این نتیجه می‌رسیم با توجه به اینکه در برخی از گونه‌ها اسپرم‌ها برای مدت طولانی در دستگاه تناسلی ماده ذخیره می‌شوند و بدون حضور جنس نر توانایی تولید نتاج دارند، می‌توان با مطالعه دقیق مکانیسم‌های دخیل و با الهام گرفتن از این وقایع در حفظ ذخایر ژنتیکی برتر و نگهداری اسپرم گونه‌هایی که در حال انقراض هستند بدون منجمد کردن موفق بود.

Oxygen Reactive Species (ROS)<sup>۲</sup>

Oxidative Stress<sup>۱</sup>  
Survival<sup>۲</sup>

مجله تحقیقات پزشکی صارم

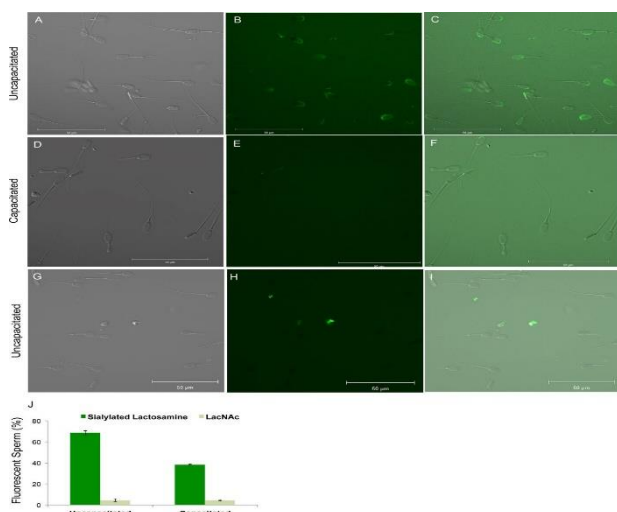
پشتیبانی کننده چنین تکنیک و سازوکارهایی که برای ذخیره طولانی مدت اسپرم است اطلاعات کمی وجود دارد.<sup>[۱۱]</sup> اگر بتوان مکانیسم های موجود در پشت این فرایندها را کشف کرد، امکان ذخیره طولانی مدت اسپرم ها در دمای محیط تسهیل می شود که مزایای عملی بسیار زیادی به ویژه برای حفظ اسپرم در شرایط آزمایشگاهی و در حالت مایع خواهد داشت.<sup>[۱۱]</sup> اویداکت<sup>۴</sup> به وسیله تنظیم اتصال اسپرم به اپیتلیوم اویداکت می تواند روی فرایند لقاح تأثیر گذار باشد.<sup>[۱۲]</sup> مطالعات نشان داده اند که تماس مستقیم بین اسپرم های انزال شده با سلول های اپیتلیال اویداکت برای طولانی شدن بقای اسپرم مورد نیاز است و برای تحریک بیان ژن de novo در سلول های اویداکت ی اهمیت دارد.<sup>[۱۳]</sup> تعامل بین اسپرم و اویداکت می تواند طول عمر اسپرم را طولانی تر کند، بلوغ اسپرم را تنظیم کند و بر توانایی باروری اسپرم در بدن پستانداران تأثیر بگذارد.<sup>[۱۴]</sup> نشان داده شده است که در شرایط آزمایشگاهی اتصال به اپیتلیوم اویداکت، طول عمر حرکتی اسپرم را در چندین گونه طولانی تر می کند.<sup>[۱۵]</sup> راهکارهای اساسی اتصال اسپرم به ویژه از نظر ذخیره اسپرم پیش از تخمک گذاری و کاهش بلوغ کامل غشایی در نظر گرفته شده است.<sup>[۱۶]</sup> از طرف دیگر اثرات حفاظتی تعامل اسپرم با اپیتلیال اویداکت در برابر استرس اکسیداتیو در اسپرم های انسانی نشان داده شده است.<sup>[۱۷]</sup> مطالعات نشان دادند که سر اسپرم در بین مؤکدها تعبیه شده و همینطور هیچ لیزوزومی در اطراف آپیکال وجود ندارد، که نشان می دهد سلول های مؤکدر می تواند به جای فاگوسیتوز در اویداکت، اسپرم را پشتیبانی کند. پس از جفت گیری در بسیاری از پستانداران، جمعیتی از اسپرماتوزوای در بخشی از اویداکت نگه داشته شده و یک مخزن به وجود می آورند.<sup>[۱۷-۱۹]</sup> در بسیاری از پستانداران، محل اصلی مخزن اسپرم بخش تحتانی تخمدان، محل اتصال ایستموس<sup>۵</sup> و لوله رحم است.<sup>[۱۹]</sup> بعد از جفت گیری تعداد کمی از اسپرم ها وارد اویداکت می شود که تنظیم این انتقال به پروتئین های خاص اسپرم بستگی دارد.<sup>[۲۰]</sup> تشکیل مخازن اسپرم، با ارتباط بین پروتئین و کربوهیدرات واسطه گری می شود که شامل شناسایی گلیکان های اویداکت توسط پروتئین های متصل شده به اسپرم انجام می گیرد.<sup>[۲۱]</sup> نوع لیگاندهای<sup>۷</sup> کربوهیدرات اویداکت ی که توسط اسپرم ها شناخته می شوند، ممکن است بر اساس گونه متفاوت باشد. گلیکان های حاوی بقایای گالاکتوزیل<sup>۸</sup>، مانوزیل<sup>۹</sup> و فوکوزیل<sup>۱۰</sup> به ترتیب و بطور رقابتی باعث اتصال اسپرم های همستر، اسب، خوک و گاو به اپیتلیوم اویداکت می شوند.<sup>[۲۲]</sup> در حالی که توافق کلی وجود دارد که تشکیل مخزن با شناسایی اسپرم و اتصال کربوهیدرات های اویداکت واسطه گری می شود اما هویت مولکول های درگیر نامشخص است. مخازن سبب افزایش طول عمر اسپرم، تنظیم ظرفیت پذیری اسپرم، کنترل پلی اسپرمی و انتخاب اسپرم طبیعی می شود.<sup>[۱۹-۲۰]</sup> مخزن اسپرم همچنین تعداد اسپرم های

موجود در محل لقاح را کنترل می کند تا فرصت برای پلی اسپرمی محدود شود.<sup>[۲۱]</sup> سرانجام، به نظر می رسد که اویداکت قادر به انتخاب اسپرم با مورفولوژی نرمال آکروزوم<sup>۱۱</sup> است، اسپرم هایی که قادر به بارور کردن تخمک هستند. اتصال به اویداکت زنده ماندنی و تحرک اسپرم را حفظ می کند.<sup>[۲۳]</sup> توانایی حفظ میزان زنده ماندنی اسپرم همانند خصوصیات کلیه سلول ها نیست.<sup>[۲۴]</sup> و نیاز به تماس مستقیم بین غشای سلول های اپیتلیال اویداکت و اسپرم دارد.<sup>[۲۵]</sup> هویت مولکولهایی که واسطه اتصال اسپرم به اویداکت می باشند، بحث برانگیز است. به نظر می رسد در گونه های مختلف این مولکول ها متفاوت باشند. مطالعات بافتی روی گاو دو نوع پروتئین اتصال به اسپرم GRP78 و HSP60 را شناسایی کردند.<sup>[۲۶]</sup> در مقابل گروه دوم همچنین با استفاده از اسپرم گاوی پیشنهاد کردند که آنکسین های<sup>۱۲</sup> غشایی پلاسمایی اویداکت که حاوی فوکوز می باشند به پروتئین های غدد ضمیمه<sup>۳</sup> که در هنگام انزال روی اسپرم قرار می گیرند، متصل می شوند.<sup>[۲۷]</sup> مطالعات مربوط به اسپرم خوک حاکی از ترشحات غدد ضمیمه است که به اسپرم اضافه می شوند.<sup>[۲۸]</sup> با این حال اسپرم های اپیدیدیم که در معرض ترشحات غدد ضمیمه قرار نگرفتند، بارور می باشند.<sup>[۲۲]</sup> در چندین گونه، شواهدی وجود دارد که اسپرم ها توسط گلیکان موجود در سلول های اپیتلیال اویداکت به ایستموس متصل می شوند.<sup>[۲۸]</sup> در بین همه گلیکان ها دو موتیف<sup>۴</sup>، قابلیت اتصال به اسپرم را دارا می باشند که عبارتند از، تری ساکارید Lewis X و ساختارهای شاخک مانند حاوی یک هسته ی مانوز با ۶-Sialylated Lactosamine. در شکل ۱، گلیکان های متصل به اسپرم خوک به عنوان نمونه نشان داده شده است. نتایج فلوروسنت نشان داده است که اسپرم خوک حاوی ۳۷۷ گلیکان می باشد که در شکل ۲ اتصال اسپرم خوک به گلیکان خاص نشان داده شده است. ۶-Sialylated Lactosamine متصل به سر اسپرم بوده و در ارتباط با اپیتلیوم اویداکت است. حیوانات مختلف از ذخیره اسپرم در دستگاه تولید مثل حیوان ماده، جهت حفظ باروری استفاده می کنند و این کار بیشتر در حیواناتی انجام می شود که هماهنگی ضعیفی بین جفت گیری و تخمک گذاری وجود دارد.<sup>[۱۲]</sup> ذخیره اسپرم، در سمندرها<sup>[۲۹]</sup>، مارها، لاک پشت ها<sup>[۱۱]</sup>، بسیاری از پرندگان و پستانداران<sup>[۳۰-۳۱]</sup> ثبت شده است، همچنین گونه ای از خفاش ها که در آن تخمک گذاری و باروری ماه ها پس از جفت گیری اتفاق می افتد.

با متصل شدن گلیکان ها به اسپرم، اتصال اسپرم به سلول های اویداکت بیش از ۶۰ درصد کاهش پیدا می کند و به دنبال آن، اسپرم ظرفیت دار نشده و تا زمان تخمک گذاری در مخزن اسپرم بدون تحرک باقی می ماند. بخشی از اسپرم که به اپیتلیوم اویداکت متصل می شود سر اسپرم می باشد.<sup>[۳۲]</sup>

Fucosyl<sup>۱۰</sup>  
Acrosome<sup>۱۱</sup>  
Annexin<sup>۱۲</sup>  
Accessory Glands<sup>۱۳</sup>  
Motif<sup>۱۴</sup>

Oviduct<sup>۴</sup>  
Isthmus<sup>۵</sup>  
Glycan<sup>۱</sup>  
Ligand<sup>۷</sup>  
Galactosyl<sup>۸</sup>  
Mannosyl<sup>۹</sup>



شکل ۳. گلیکان‌های ۶-Sialylated متصل به سر اسپرم که این اتصال پس از ظرفیت پذیری اسپرم کاهش می‌یابد [۱۲]

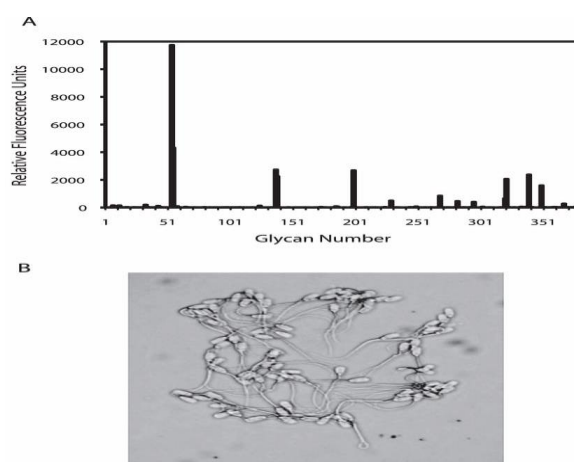
با توجه به مطالب بیان شده در بالا، به ارایه مطالبی در خصوص ذخیره اسپرم، عملکرد اپیتلیوم اویداکت در اتصال و ذخیره سازی اسپرم، تجزیه و تحلیل گلیکان‌های اسپرم خوک، رستپورهای گلیکان‌های اویداکت در سطح اسپرم و پاسخ سلول‌های اپیتلیال اویداکت به اتصال اسپرم برای درک بیشتر مکانیسم‌های دخیل، پرداخته می‌شود. با درک بیشتر طبیعت اویداکت در نگهداری طولانی مدت اسپرم‌ها می‌توان راه کارهای مناسبی برای حفظ طولانی مدت اسپرم پستانداران در شرایط مایع و بدون منجمد کردن پیشنهاد داد.

### ذخیره اسپرم

در بعضی از گونه‌ها از جمله برخی از خزندگان، مار، خفاش، زنبور و برخی از ماهی‌ها اسپرم‌ها بطور معمول تا یک دهه ذخیره می‌شوند. اما سازه‌های مورد استفاده برای ذخیره اسپرم به طور قابل توجهی در سطح گونه‌ها متفاوت است، که نشان می‌دهد مکانیسم‌های اساسی ممکن است به همان اندازه متغیر باشند. پس از جفت‌گیری در بسیاری از پستانداران جمعیتی از اسپرماتوزوای در بخشی از اویداکت نگه داشته شده و یک مخزن به وجود می‌آورند. این مخزن عملکرد اسپرم را تنظیم می‌کند، از جمله قابلیت زنده ماندن و ظرفیت‌پذیری [۱۵] و در نهایت بر طول عمر اسپرم تأثیر می‌گذارد. علاوه بر این، اتصال اسپرم به سلول‌های اویداکت، رونویسی ژن سلول‌های اویداکت ی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، که شاید به منظور ذخیره اسپرم و باروری باشد. خزندگان، دوزیستان، ماهی و پرندگان اسپرم را ذخیره می‌کنند [۱۳]. یک کوسه پس از ۴۵ ماه دور بودن از جنس نر توانایی

Glycans that Bound Sperm			RFU
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp13		11,750
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6	6-Sialylated biantennary lactosamine, Glycan #55		
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp8		4,322
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6	6-Sialylated biantennary lactosamine, Glycan #56		
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp12		2,689
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6	6-Sialylated biantennary lactosamine, Glycan #200		
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -N(LT)AVL		2,068
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6	6-Sialylated biantennary lactosamine, Glycan #322		
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp12		656
	GlcNAc 1-2Man 1-6		
	Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3		
	Monosialylated branched glycan, Glycan #321		
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp12		408
	Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3		
	Monosialylated biantennary lactosamine, Glycan #296		
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6	Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp22		1601
	Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3		
	Non-sialylated biantennary lactosamine, Glycan #350		
	Fuc 1-3		
Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc -Sp0	Lewis X dimer, Glycan #138		2,741
	Fuc 1-3		
	GlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc 1-3Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc -Sp0		2,381
	Incompletely fucosylated Lewis X-containing structure, Glycan #340		
	Fuc 1-3		
Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc -Sp0	Lewis X trimer, Glycan #139		2,260
	Fuc 1-3		
Neu5Ac 2-3GalGlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc 1-3Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-4GlcNAc -Sp0	Sialylated Lewis X trimer, Glycan #230		498
	Fuc 1-3		
	(3O5O3)Gal 1-4GlcNAc -Sp0		850
	Sulfated Lewis X, Glycan #269		
	Fuc 1-3		
Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-3GlcNAc -Sp0	Lewis X-Lewis A dimer, Glycan #283		463
	Fuc 1-4		
	All Remaining Glycans		<300

شکل ۱. گلیکان‌های متصل به اسپرم‌های ظرفیت‌دار نشده خوک [۱۲]



شکل ۲. اسپرم خوک متصل به گلیکان‌های خاص که به صورت کووالانسی در یک اسلاید میکروسکوپ آرایه شده‌اند [۱۳]

از آنجایی که در اتصال اسپرم به اپیتلیوم اویداکت موتیف‌های لاکتوزآمین ضروری می‌باشد، بنابراین رستپورهای این موتیف‌ها در سر اسپرم یافت می‌شود. شکل ۳ موقعیت ۶-Sialylated Biantennary Glycan متصل به سر اسپرم را نشان می‌دهد.

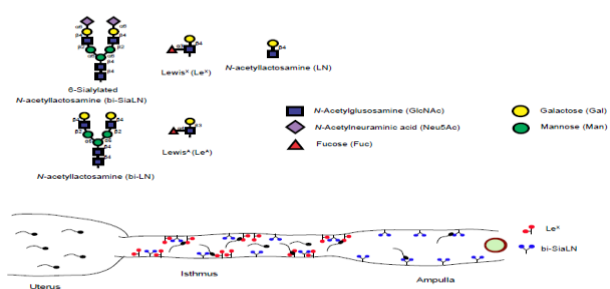
Capacitation<sup>۱۰</sup>

مجله تحقیقات پزشکی صرم

اپیتلیوم اویداکت طول عمر باروری اسپرم را طولانی می‌کند [۴۲]. توانایی حفظ میزان زنده ماندن اسپرم یک ویژگی مشترک کلیه سلول‌ها نیست [۴۳] و نیاز به تماس مستقیم بین غشای سلول‌های اپیتلیال اویداکت و اسپرم دارد [۴۶]. اتصال به اویداکت با مهار آزادسازی کلسیم داخل سلولی که به هنگام ظرفیت‌پذیری اسپرم به طور طبیعی انجام می‌گیرد، روی عملکرد اسپرم تاثیر می‌گذارد [۴۴]. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند اتصال اسپرم به اویداکت توسط گلیکان‌های اویداکت میانجی‌گری می‌شود [۲۳].

### تجزیه و تحلیل گلیکان‌های اسپرم خوک:

تعداد بسیار بیشتری از گلیکان‌ها (تقریباً ۴۰۰ عدد) برای توانایی آنها در اتصال اسپرم خوک، با استفاده از یک آرایه گلیکان که برای اولین بار برای ارزیابی اینکه لکتین‌های<sup>۹</sup> خالص شده گلیکان ساخته می‌شوند، مورد آزمایش قرار گرفتند [۴۵]. تمام گلیکان‌هایی که اسپرم‌ها به آن متصل شده‌اند، حاوی یکی از دو موتیف گلیکان، یا یک تری ساکارید لوئیس X<sup>۲۰</sup> یا یک ساختار شاخه‌دار با هسته مانوز<sup>۲۱</sup> و شاخک‌های انتهایی در تری ساکارید لاکتوزامین<sup>۲۲</sup> می‌باشد (شکل ۴).



شکل ۴. ساختارهای گلیکان که اسپرم خوک را به هم متصل می‌کند (bi-SiaLN)، bi-LN و LeX (گلیکان‌های مرتبط با آن LN و LeA)، bi-SiaLN به وفور در اپیتلیوم آمپولا و ایستموس شامل سلول‌های مژک‌دار و غیر مژک‌دار تشخیص داده شده است. LeX در ایستموس اما نه در آمپولا تشخیص داده شده است [۴۶]

در کلیه ساختارهای حاوی اسید سیالیک<sup>۲۳</sup> به اسپرم متصل می‌شود، اسید سیالیک به جای موقعیت سه گالاکتوز در موقعیت ۶ قرار می‌گیرد که نشان می‌دهد اتصال خاصی برای اسپرم لازم است. علاوه بر این، ساختار شاخه‌ای بر روی هسته مانوز لازم است<sup>۲۱</sup>. به منظور تأیید اینکه ایستموس، گلیکان‌هایی با موتیف مرتبط با اسپرم تولید می‌کند و برای شناسایی کل

بارور شدن و تولد نتاج<sup>۲۴</sup> دارد. محل ذخیره اسپرم بین گونه‌ها متفاوت است، که ممکن است مربوط به تفاوت‌های مورفولوژیکی دستگاه‌های تولید مثل ماده باشد. بعضی از گونه‌ها اسپرم‌ها را در اندام‌های تخصصی که غالباً لوله‌های کور هستند ذخیره می‌کنند<sup>۱۰۱</sup>. به دلیل تنوع اندام‌های ذخیره کننده اسپرم، مکانیسم‌های مورد استفاده و ذخیره سازی، توانایی ذخیره اسپرم به احتمال زیاد به طور مستقل انجام می‌گیرد. تکامل مکرر مکانیسم‌های مختلف ذخیره‌سازی نشان می‌دهد که توانایی ذخیره اسپرم می‌تواند به راحتی تکامل یابد<sup>۲۵</sup>. اما فعل و انفعالات مولکولی و سلولی که از ذخیره سازی پشتیبانی می‌کنند ممکن است در بین گروه‌های طبقه‌بندی، متفاوت باشد.

اویداکت به عنوان محل ذخیره اسپرم در بدن پستانداران عمل می‌کند. به سادگی پیدا کردن اسپرم زنده در مکانی در دستگاه تناسلی، نشان می‌دهد که اسپرم در آنجا حفظ می‌شود. طول عمر ممکن است یک ویژگی ذاتی اسپرم باشد و ممکن است جنس ماده در افزایش طول عمر اسپرم نقشی نداشته باشد. ذخیره اسپرم واقعی با تأثیر مخزن بر طول عمر و عملکرد اسپرم نشان داده شده است [۳۶].

"مخزن عملکردی اسپرم" در پستانداران، همانطور که توسط هانتز ابداع شده است، در ایستموس اویداکت یافت می‌شود. برای ورود به ایستموس، اسپرم باید از محل اتصال لوله رحمی عبور کند، که به نظر می‌رسد کنترل خاصی بر روی ورود اسپرم دارد، زیرا اسپرم موش در چندین پروتئین از جمله ADAM2، Calmegin و TACE، خارج از محل اتصال لوله رحمی کمبود نشان می‌دهد [۳۷، ۳۸]. وقتی اسپرم‌ها به اپیتلیوم اویداکت متصل می‌شوند برای حفظ زنده‌مانی، تحرک آن‌ها کم شده و از ظرفیت‌پذیری اسپرم‌ها ممانعت می‌شود [۳۹]. علاوه بر طولانی شدن زنده‌مانی اسپرم، پیشنهاد شده است که محل‌های ذخیره اسپرم، اسپرم بارور را در گونه‌های پستانداران و غیر پستاندار تشخیص می‌دهند و انتخاب می‌کنند [۳۸]. در نهایت، ذخیره اسپرم، جمعیت اسپرم مناسب برای لقاح را افزایش می‌دهد.

### عملکرد اپیتلیوم اویداکت در اتصال و ذخیره‌سازی اسپرم

در پستانداران، اتصال به اپیتلیوم اویداکت حداقل تا حدودی مسؤول حفظ اسپرم در اویداکت است. اتصال به اپیتلیوم تأثیرات متنوعی روی اسپرم دارد که در زیر مورد بحث قرار گرفته است. گزارش اخیر از ذخیره اسپرم در پشه آنوفل<sup>۱۸</sup> نشان داد که جفت‌گیری، رونویسی از پراکسیداز را فعال می‌کند [۴۰]. شاید اتصال به اپیتلیوم اویداکت باعث افزایش تولید آنزیم‌هایی که گونه‌های فعال اکسیژن در اسپرم را تنظیم می‌کنند، شود تا طول عمر آنها طولانی شود. سر اسپرم به سلول‌های اپیتلیوم متصل می‌شود [۴۱]. اتصال به

Lewis X (LeX) Trisaccharide<sup>۲۰</sup>  
Mannose<sup>۲۱</sup>  
Lactose-amine<sup>۲۲</sup>  
Sialic Acid<sup>۲۳</sup>

Progeny<sup>۱۶</sup>  
Uterine-Tubal Junction (UTJ)<sup>۱۷</sup>  
Anopheles Mosquito<sup>۱۸</sup>  
Lectin<sup>۱۹</sup>

خاص توسط سلول‌های اویداکت مشخص نیست. این ممکن است به توضیح چگونگی تحمل سلول‌های بیگانه مانند اسپرم اما رد عوامل بیماری‌زا توسط سیستم ایمنی بدن، کمک می‌کند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد پروتئین‌های غده‌ی وزیکول سمینال<sup>۵۱</sup> ممکن است به رحم اجازه تحمل اسپرم را می‌دهد. از جمله پروتئین‌هایی که میزان رونویسی آن‌ها در سلول‌های اویداکت افزایش می‌یابد پروتئین‌های شوک حرارتی<sup>۵۲</sup> هستند. علاوه بر این یکی از پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPA8) طول عمر اسپرم را افزایش می‌دهد. نتیجه بسیار جالب این است که سلول‌های اویداکت نیز می‌توانند تفاوت‌های بسیار ظریفی بین اسپرم و در نتیجه جنسیت فرزندان را تشخیص دهند<sup>۵۱</sup>.

### نتیجه‌گیری

با درک درست از چگونگی ذخیره اسپرم‌ها در اویداکت می‌توان اسپرم‌ها را برای مدت زمان بیشتری بدون منجمد کردن نگهداری کرد. این به نفع گونه‌هایی است که اسپرم آن‌ها پس از انجماد زنده‌مانی کمتری داشته و فقط برای مدت چند روز در شرایط مایع می‌توان نگهداری کرد. همچنین می‌تواند به نفع مناطقی از جهان باشد که زیرساخت ضعیف برای ذخیره سازی مایع منی دارند. ترکیباتی گلیکانی موجود در اویداکت، تاثیر بسزایی در اتصال اسپرم به اویداکت و ظرفیت‌پذیری اسپرم دارند. در حالت کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از گلیکان‌ها در رقیق‌کننده اسپرم، می‌تواند از جمله روش‌هایی باشد که سبب افزایش طول عمر اسپرم در اویداکت می‌شود و ممکن است یکی از مشکلات اصلی در تلقیح مصنوعی که عدم هماهنگی تخم‌گذاری با حضور اسپرم است را بهبود بخشد.

### منابع

1. Tabatabaei SA, A. Effect of L-carnitine on sperm quality during liquid storage of chicken semen: Comparative Clinical Pathology; 2012.
2. Tabatabaei S, Aghaei A. Effect of L-carnitine on sperm quality during liquid storage of chicken semen. Comparative Clinical Pathology. 2012;21(5):711-7.
3. Sexton T. A new poultry semen extender: 1. Effect of extension on the fertility of chicken semen. Poultry science. 1977;56(5):1443-6.
4. Sharideh H, Esmaeili Neia L, Zaghari M, Zhandi M, Akhlaghi A, Lotfi L. Effect of feeding guanidinoacetic acid and L-arginine on the fertility rate and sperm penetration in the perivitelline layer of aged broiler breeder hens. Journal of animal physiology animal nutrition. 2016;100(2):316-22.

ساختارهای گلیکان‌های اپیتلیال اویداکت اتصال یابنده به اسپرم، توسط طیف سنجی توضیح داده می‌شوند<sup>۱۲</sup>. بسیاری از الیگو ساکاریدها از طریق انتهای آسپارازین پروتئین‌ها به پروتئین متصل می‌شوند. bi-SiaLN و LeX به سر اسپرم متصل می‌شوند. بخشی از اسپرم که به اپیتلیوم اویداکت متصل می‌شود سر اسپرم است. بنابراین گیرنده‌های معتبر برای گلیکان‌های bi-SiaLN و/یا موتیف LeX باید روی سر اسپرم قرار داشته باشند<sup>۴۷</sup>. در ۷۰-۸۰ درصد موارد قبل از ظرفیت‌پذیری اسپرم، bi-SiaLN در ناحیه آپیکال آکروزم اسپرم مشاهده شده است<sup>۱۲</sup>. ساختارهای مشابه، LeA<sup>۲۴</sup> ساکارید لاکتوزامین کمتر از ۱۰ درصد به اسپرم متصل می‌شود.

### رستپورهای گلیکان‌های اویداکت در سطح اسپرم

یک قدم اساسی برای درک نقش موتیف‌های LeX و bi-SiaLN در شکل‌گیری مخزن اویداکت توصیف و شناسایی پروتئین‌های موجود در غشای پلاسمایی اسپرم است که این موتیف‌ها را به رسمیت می‌شناسد و پیوند می‌دهند. اطلاعات مربوط به اسپرم گراز نشان داد که AQN<sup>۱</sup> که از ترشحات غده ضمیمه جنسی ناشی می‌شود یک پروتئین اتصال شونده به گلیکان است<sup>۲۲</sup>. گزارش شده است که AQN<sup>۱</sup> اسپرم به بقایای مانوز و گالاکتوز بر روی سلول‌های اویداکت متصل می‌شود، اما نه به ساختارهای LeX یا bi-SiaLN<sup>۲۱</sup>. به طور مشابه پروتئین‌های BSP در اتصال باقیمانده‌های فوکوز به آنکسین در اویداکت گاو نقش دارند<sup>۴۸</sup>. پروتئین‌هایی مانند Spermadhesins فراوان‌ترین محصولات غدد جنسی ضمیمه هستند، اما مایعات غده ضمیمه برای باروری لازم نیست<sup>۲۸</sup>. این نشان می‌دهد پروتئین‌های دیگر موجود در اسپرم اپیدیدیمال ممکن است عملکرد مشابهی داشته باشند. در مطالعه‌ای برای توصیف پروتئین‌ها بر روی غشای پلاسمایی اسپرم گراز، که موتیف‌های LeX و bi-SiaLN را تشخیص می‌دهند، پروتئین‌های غشای اسپرم توسط SDS-PAGE از هم جدا شده به نیتروسلولوز منتقل و با گلیکان‌ها بیوتینیل شده، انکوبه شدند. نتایج نشان داد که اسپرم‌ها دارای گروه بسیار متمایزی از پروتئین‌های متصل شونده به LeX با وزن مولکولی بین ۱۲ و ۲۵۰ کیلو دالتون می‌باشند<sup>۴۹</sup>. اتصال LeX با افزودن کلسیم کاهش یافت که نشان می‌دهد که برخی از گیرنده‌های گلیکان وابسته به کلسیم است.

### ۶-پاسخ سلول‌های اپیتلیال اویداکت به اتصال اسپرم

علاوه بر تاثیر اتصال روی اسپرم، به نظر می‌رسد این اتصال باعث تغییر در عملکرد سلول‌های اویداکت نیز می‌شود. مهم‌تر از همه وجود اسپرم باعث تغییر مشخصات رونویسی سلول‌های اویداکت و پروتئین‌های تولید شده توسط سلول‌های اپیتلیال اویداکت می‌شود<sup>۵۰</sup>. افزایش تولید پروتئین‌های

16. Hunter R. Sperm head binding to epithelium of the oviduct isthmus is not an essential preliminary to mammalian fertilization-review. *Zygote*. 2011;19(3):265.
17. Huang VW, Zhao W, Lee C-L, Lee CY, Lam KK, Ko JK, et al. Cell membrane proteins from oviductal epithelial cell line protect human spermatozoa from oxidative damage. *Fertility and sterility*. 2013;99(5):1444-52. e3.
18. Suarez SS. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *International Journal of Developmental Biology*. 2004;52(5-6):455-62.
19. Tienthai P, Kjellén L, Pertoft H, Suzuki K, Rodriguez-Martinez H. Localization and quantitation of hyaluronan and sulfated glycosaminoglycans in the tissues and intraluminal fluid of the pig oviduct. *Reproduction, Fertility and Development*. 2000;12(4):173-82.
20. Nakanishi T, Isotani A, Yamaguchi R, Ikawa M, Baba T, Suarez SS, et al. Selective passage through the uterotubal junction of sperm from a mixed population produced by chimeras of calmegin-knockout and wild-type male mice. *Biology of reproduction*. 2004;71(3):959-65.
21. Töpfer-Petersen E, Ekhlasi-Hundrieser M, Tsoleva M. Glycobiology of fertilization in the pig. *International Journal of Developmental Biology*. 2004;52(5-6):717-36.
22. Sabeur K, Ball BA. Characterization of galactose-binding proteins in equine testis and spermatozoa. *Animal reproduction science*. 2007;101(1-2):74-84.
23. Hung P, Suarez S. Regulation of sperm storage and movement in the ruminant oviduct. 2010.
24. Bayarri S, Chuliá I, Costell E. Comparing  $\lambda$ -carrageenan and an inulin blend as fat replacers in carboxymethyl cellulose dairy desserts. *Rheological and sensory aspects. Food Hydrocolloids*. 2010;24(6-7):578-87.
25. Timothy Smith T, Nothnick WB. Role of direct contact between spermatozoa and oviductal epithelial cells in maintaining rabbit sperm viability. *Biology of reproduction*. 1997;56(1):83-9.
26. Boilard M, Reyes-Moreno C, Lachance C, Massicotte L, Bailey J, Sirard M-A, et al. Localization of the chaperone proteins GRP78 and HSP60 on the luminal surface of bovine oviduct epithelial cells and their association with spermatozoa. *Biology of Reproduction*. 2004;71(6):1879-89.
27. Ignatz GG, Cho MY, Suarez SS. Annexins are candidate oviductal receptors for bovin sperm
5. Kumaresan A, Kadirvel G, Bujarbaruah K, Bardoloi R, Das A, Kumar S, et al. Preservation of boar semen at 18 C induces lipid peroxidation and apoptosis like changes in spermatozoa. *Animal reproduction science*. 2009;110(1-2):162-71.
6. Partyka A, Łukaszewicz E, Nizański W. Effect of cryopreservation on sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in fowl semen. *Theriogenology*. 2012;77(8):1497-504.
7. Lucio CdF, Regazzi FM, Silva L, Angrimani DdSR, Nichi M, Vannucchi CI. Oxidative stress at different stages of two-step semen cryopreservation procedures in dogs. *Theriogenology*. 2016;85(9):1568-75.
8. Barthelemy C, Royere D, Hammah S, Lebos C, Tharanne M-J, Lansac J. Ultrastructural changes in membranes and acrosome of human sperm during cryopreservation. *Archives of andrology*. 1990;25(1):29-40.
9. Phillips KP, Jorgensen TH, Jolliffe KG, Richardson DS. Potential inter-season sperm storage by a female hawksbill turtle. *Marine Turtle Newsletter*. 2014(140):13.
10. Neubaum DM, Wolfner MF. 3 Wise, winsome, or weird? Mechanisms of sperm storage in female animals. *Current topics in developmental biology*. 1998;41:67-97.
11. Holt WV. Mechanisms of sperm storage in the female reproductive tract: an interspecies comparison. *Reproduction in domestic animals*. 2011;46:68-74.
12. Kadirvel G, Machado SA, Korneli C, Collins E, Miller P, Bess KN, et al. Porcine sperm bind to specific 6-sialylated biantennary glycans to form the oviduct reservoir. *Biology of reproduction*. 2012;87(6):147, 1-11.
13. Yeste M, Lloyd R, Badia E, Briz M, Bonet S, Holt W. Direct contact between boar spermatozoa and porcine oviductal epithelial cell (OEC) cultures is needed for optimal sperm survival in vitro. *Animal reproduction science*. 2009;113(1-4):263-78.
14. Miller DJ. Physiology and endocrinology symposium: sperm-oviduct interactions in livestock and poultry. *Journal of animal science*. 2011;89(5):1312-4.
15. Apichela S, Jiménez-Díaz M, Roldan-Olarte M, Valz-Gianinet J, Miceli D. In vivo and in vitro sperm interaction with oviductal epithelial cells of llama. *Reproduction in domestic animals*. 2009;44(6):943-51.



40. Miller D. Regulation of sperm function by oviduct fluid and the epithelium: insight into the role of glycans. *Reproduction in domestic animals*. 2015;50:31-9.
41. Suarez SS, Pacey A. Sperm transport in the female reproductive tract. *Human reproduction update*. 2006;12(1):23-37.
42. Rodriguez-Martinez H. Role of the oviduct in sperm capacitation. *Theriogenology*. 2007;68:S138-S46.
43. Dobrinski I, Timothy Smith T, Suarez SS, Ball BA. Membrane contact with oviductal epithelium modulates the intracellular calcium concentration of equine spermatozoa in vitro. *Biology of reproduction*. 1997;56(4):861-9.
44. Fazeli A, Elliott R, Duncan A, Moore A, Watson P, Holt W. In vitro maintenance of boar sperm viability by a soluble fraction obtained from oviductal apical plasma membrane preparations. *Reproduction*. 2003;125(4):509-17.
45. Chang H, Suarez SS. Rethinking the relationship between hyperactivation and chemotaxis in mammalian sperm. *Biology of reproduction*. 2010;83(4):507-13.
46. Amann R, Griel Jr L. Fertility of bovine spermatozoa from rete testis, cauda epididymidis, and ejaculated semen. *Journal of dairy science*. 1974;57(2):212-9.
47. Silva E, Kadirvel G, Jiang R, Bovin N, Miller D. Multiple proteins from ejaculated and epididymal porcine spermatozoa bind glycan motifs found in the oviduct. *Andrology*. 2014;2(5):763-71.
48. Georgiou AS, Snijders AP, Sostaric E, Aflatoonian R, Vazquez JL, Vazquez JM, et al. Modulation of the oviductal environment by gametes. *Journal of proteome research*. 2007;6(12):4656-66.
49. Kawano N, Araki N, Yoshida K, Hibino T, Ohnami N, Makino M, et al. Seminal vesicle protein SVS2 is required for sperm survival in the uterus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(11):4145-50.
50. Lloyd R, Elliott R, Fazeli A, Watson P, Holt W. Effects of oviductal proteins, including heat shock 70 kDa protein 8, on survival of ram spermatozoa over 48 h in vitro. *Reproduction, Fertility and Development*. 2009;21(3):408-18.
51. Lloyd R, Fazeli A, Watson P, Holt W. The oviductal protein, heat-shock 70-kDa protein 8, improves the long-term survival of ram spermatozoa during storage at 17° C in a commercial extender. *Reproduction, Fertility and Development*. 2012;24(4):543-9.
- surface proteins and thus may serve to hold bovine sperm in the oviductal reservoir. *Biology of reproduction*. 2007;77(6):906-13.
28. Wagner A, Ekhlesi-Hundrieser M, Hettel C, Petrunkina A, Waberski D, Nimtz M, et al. Carbohydrate-based interactions of oviductal sperm reservoir formation—studies in the pig. *Molecular Reproduction and Development*. 2002;61(2):249-57.
29. Sever DM, Brizzi R. Comparative biology of sperm storage in female salamanders. *Journal of Experimental Zoology*. 1998;282(4-5):460-76.
30. Suarez S, Redfern K, Raynor P, Martin F, Phillips D. Attachment of boar sperm to mucosal explants of oviduct in vitro: possible role in formation of a sperm reservoir. *Biology of reproduction*. 1991;44(6):998-1004.
31. Holt W, Elliott R, Fazeli A, Sostaric E, Georgiou A, Satake N, et al. Harnessing the biology of the oviduct for the benefit of artificial insemination. *Society of Reproduction and Fertility supplement*. 2006;62:247-59.
32. Holt W, Lloyd R. Sperm storage in the vertebrate female reproductive tract: how does it work so well? *Theriogenology*. 2010;73(6):713-22.
33. Bernal M, Sinai N, Rocha C, Gaither M, Dunker F, Rocha L. Long-term sperm storage in the brownbanded bamboo shark *Chiloscyllium punctatum*. *Journal of fish biology*. 2015;86(3):1171-6.
34. Orr TJ, Zuk M. Reproductive delays in mammals: an unexplored avenue for post-copulatory sexual selection. *Biological Reviews*. 2014;89(4):889-912.
35. Okabe M. The cell biology of mammalian fertilization. *Development*. 2013;140(22):4471-9.
36. Rodríguez-Martínez H, Saravia F, Wallgren M, Tienthai P, Johannisson A, Vázquez JM, et al. Boar spermatozoa in the oviduct. *Theriogenology*. 2005;63(2):514-35.
37. Coy P, Cánovas S, Mondéjar I, Saavedra MD, Romar R, Grullón L, et al. Oviduct-specific glycoprotein and heparin modulate sperm-zona pellucida interaction during fertilization and contribute to the control of polyspermy. *Proceedings of the national Academy of Sciences*. 2008;105(41):15809-14.
38. Smith DF, Song X, Cummings RD. Use of glycan microarrays to explore specificity of glycan-binding proteins. *Methods in enzymology*. 2010;480:417-44.
39. Boilard M, Bailey J, Collin S, Dufour M, Sirard M-A. Effect of bovine oviduct epithelial cell apical plasma membranes on sperm function assessed by a novel flow cytometric approach. *Biology of reproduction*. 2002;67(4):1125-32.