

## 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، اوبدکت، اتصال سلولی، نگهداری طولانی مدت

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۳۱

\*نویسنده مسئول: مهدی نظری

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

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<sup>[۱]</sup>. در طیور، نتایج حاصل از عملکرد باروری پس از تلقیح مرغ با اسپرم منجمد، مطلوب نیستند<sup>[۲]</sup>. 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<sup>[۳]</sup>. 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 آنها پس از ذوب می‌شود. در فرآیند انجماد اسپرم، بسیاری از عوامل مانند تنش اکسیداتیو و عدم دفاع آنتی‌اکسیدانی، ممکن است بر کیفیت اسپرم‌ها تأثیر منفی بگذارند. گزارش شده است که انجماد اسپرم باعث کاهش میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها به مقدار ۵۰-۴۰ درصد می‌شود<sup>[۵]</sup>. در طول انجماد و ذوب شدن، تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر افزایش می‌یابد، که منجر به تغییر وضعیت دفاع آنتی‌اکسیدانی اسپرم و پلاسما منی می‌شود و بر کیفیت منی و توانایی لقاح اسپرم تأثیر می‌گذارد<sup>[۶]</sup>. 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<sup>[۷]</sup>. همچنین، تغییر ساختاری شدید در بخش‌های مختلف سلول‌های اسپرم پس از انجماد و ذوب مشاهده شده است<sup>[۸]</sup>. 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 برون‌تنی 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 اوبدکت ذخیره کنند<sup>[۹]</sup>. 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<sup>[۱۰]</sup>. 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 اوبدکت 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 اوبدکت و پروتئین‌های اتصالی 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, Biology of 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>†</sup>

Oxidative Stress<sup>1</sup>  
Survival<sup>†</sup>

مجله تحقیقات پزشکی صرام

موجود در محل لقاح را کنترل می‌کند تا فرصت برای پلی‌اسپرمی محدود شود<sup>[۲۱]</sup>. سرانجام، به نظر می‌رسد که اویداکت قادر به انتخاب اسپرم با مورفولوژی نرمال آکروزوم<sup>۱</sup> است، اسپرم‌هایی که قادر به بارور کردن تخمک هستند. اتصال به اویداکت زنده‌ماندنی و تحرک اسپرم را حفظ می‌کند<sup>[۲۲]</sup>. توانایی حفظ میزان زنده‌مانی اسپرم همانند خصوصیات کلیه سلول‌ها نیست<sup>[۲۴]</sup>، و نیاز به تماس مستقیم بین غشای سلول‌های اپیتلیال اویداکت و اسپرم دارد<sup>[۲۵]</sup> هویت مولکول‌هایی که واسطه اتصال اسپرم به اویداکت می‌باشند، بحث برانگیز است. به نظر می‌رسد در گونه‌های مختلف این مولکول‌ها 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 آنکسین‌های<sup>۱۲</sup> غشایی پلاسمایی اویداکت که حاوی فوکوز می‌باشند به پروتئین‌های غدد ضمیمه<sup>۳</sup> که در هنگام انزال روی اسپرم قرار می‌گیرند، متصل می‌شوند<sup>[۲۷]</sup>. مطالعات مربوط به اسپرم خوک حاکی از ترشحات غدد ضمیمه است که به اسپرم اضافه می‌شوند<sup>[۲۸]</sup>. با این حال اسپرم‌های اپیدیدیم که در معرض ترشحات غدد ضمیمه قرار نگرفتند، بارور می‌باشند<sup>[۲۲]</sup>. در چندین گونه، شواهدی وجود دارد که اسپرم‌ها توسط گلیکان موجود در سلول‌های اپیتلیال اویداکت به ایستموس متصل می‌شوند<sup>[۲۸]</sup>.

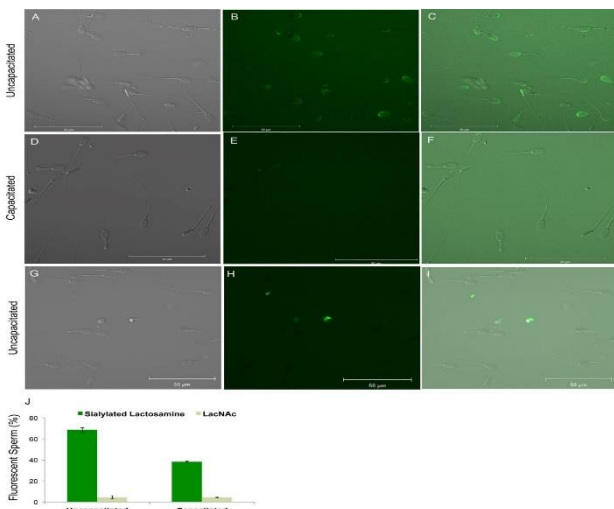
در بین همه گلیکان‌ها دو موتیف<sup>۴</sup>، قابلیت اتصال به اسپرم را دارا می‌باشند که عبارتند از، تری ساکارید Lewis X و ساختارهای شاخک مانند حاوی یک هسته‌ی مانوز با ۶-Sialylated Lactosamine. در شکل ۱، گلیکان-های متصل به اسپرم خوک به عنوان نمونه نشان داده شده است. نتایج فلوروسنت نشان داده است که اسپرم خوک حاوی ۳۷۷ گلیکان می‌باشد 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 می‌کنند و این کار بیشتر در حیواناتی انجام می‌شود که هماهنگی ضعیفی بین جفت‌گیری و تخمک‌گذاری وجود دارد<sup>[۱۲]</sup>. ذخیره اسپرم، در سمندرها<sup>[۲۹]</sup>، مارها، لاک‌پشت‌ها<sup>[۱۱]</sup>، بسیاری از پرندگان و پستانداران<sup>[۳۰-۳۱]</sup> ثبت شده است، همچنین گونه‌ای از خفاش‌ها که در آن تخمک‌گذاری و باروری ماه‌ها پس از جفت‌گیری اتفاق می‌افتد.

با متصل شدن گلیکان‌ها به اسپرم، اتصال اسپرم به سلول‌های اویداکت بیش از ۶۰ درصد کاهش پیدا می‌کند و به دنبال آن، اسپرم ظرفیت‌دار نشده و تا زمان تخمک‌گذاری در مخزن اسپرم بدون تحرک باقی می‌ماند. بخشی از اسپرم که به اپیتلیوم اویداکت متصل می‌شود سر اسپرم می‌باشد<sup>[۳۲]</sup>.

پشتیبانی کننده چنین تکنیک و سازوکارهایی که برای ذخیره طولانی مدت اسپرم است اطلاعات کمی وجود دارد<sup>[۱۱]</sup>. اگر بتوان مکانیسم‌های موجود در پشت این فرایندها را کشف کرد، امکان ذخیره طولانی مدت اسپرم‌ها در دمای محیط تسهیل می‌شود که مزایای عملی بسیار زیادی به ویژه برای حفظ اسپرم در شرایط آزمایشگاهی و درحالت مایع خواهد داشت<sup>[۱۱]</sup>. اویداکت<sup>۴</sup> به‌وسیله تنظیم اتصال اسپرم به اپیتلیوم اویداکت می‌تواند روی فرایند لقاح تأثیرگذار باشد<sup>[۱۲]</sup>. مطالعات نشان داده‌اند که تماس مستقیم بین اسپرم‌های انزال شده با سلول‌های اپیتلیال اویداکت برای طولانی شدن بقای اسپرم مورد نیاز است و برای تحریک بیان ژن *de novo* در سلول‌های اویداکت اهمیت دارد<sup>[۱۳]</sup>. تعامل بین اسپرم و اویداکت می‌تواند طول عمر اسپرم را طولانی‌تر 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 طولانی‌تر می‌کند<sup>[۱۵]</sup>. راهکارهای اساسی اتصال اسپرم به ویژه از نظر ذخیره اسپرم پیش از تخمک‌گذاری 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 اسپرم‌های انسانی نشان داده شده است<sup>[۱۷]</sup>. مطالعات نشان دادند که سر اسپرم در بین مژک‌ها تعبیه شده و همینطور هیچ لیزوزومی در اطراف آپیکال وجود ندارد، که نشان می‌دهد سلول‌های مژک‌دار می‌تواند به جای فاگوسیتوز در اویداکت، اسپرم را پشتیبانی کند. پس از جفت‌گیری در بسیاری از پستانداران، جمعیتی از اسپرم‌اتوزواها در بخشی از اویداکت نگه داشته شده و یک مخزن به وجود می‌آورند<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 جفت‌گیری تعداد کمی از اسپرم‌ها وارد اویداکت می‌شود که تنظیم این انتقال به پروتئین‌های خاص اسپرم بستگی دارد<sup>[۲۰]</sup>. تشکیل مخازن اسپرم، با ارتباط بین پروتئین و کربوهیدرات واسطه‌گری می‌شود که شامل شناسایی گلیکان‌های اویداکت توسط پروتئین‌های متصل شده به اسپرم انجام می‌گیرد<sup>[۲۱]</sup>. نوع لیگاندهای کربوهیدرات اویداکتی که توسط اسپرم‌ها شناخته می‌شوند، ممکن است بر اساس گونه متفاوت باشد. گلیکان‌های حاوی بقایای گالاکتوزیل<sup>۶</sup>، مانوزیل<sup>۷</sup> و فوکوزیل<sup>۸</sup> به ترتیب و بطور رقابتی باعث اتصال اسپرم‌های همستر، اسب، خوک و گاو به اپیتلیوم اویداکت می‌شوند<sup>[۲۲]</sup>. در حالی که توافق کلی وجود دارد که تشکیل مخزن با شناسایی اسپرم و اتصال کربوهیدرات‌های اویداکت واسطه‌گری می‌شود اما هویت مولکول‌های درگیر نامشخص است. مخازن سبب افزایش طول عمر اسپرم، تنظیم ظرفیت‌پذیری اسپرم، کنترل پلی‌اسپرمی و انتخاب اسپرم طبیعی می‌شود<sup>[۱۹-۲۰]</sup>. مخزن اسپرم همچنین تعداد اسپرم‌های

Fucosyl<sup>۸</sup>  
Acrosome<sup>۱</sup>  
Annexin<sup>۱۲</sup>  
Accessory Glands<sup>۳</sup>  
Motif<sup>۴</sup>

Oviduct<sup>۴</sup>  
Isthmus<sup>۵</sup>  
Glycan<sup>۱</sup>  
Ligand<sup>۷</sup>  
Galactosyl<sup>۶</sup>  
Mannosyl<sup>۸</sup>



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

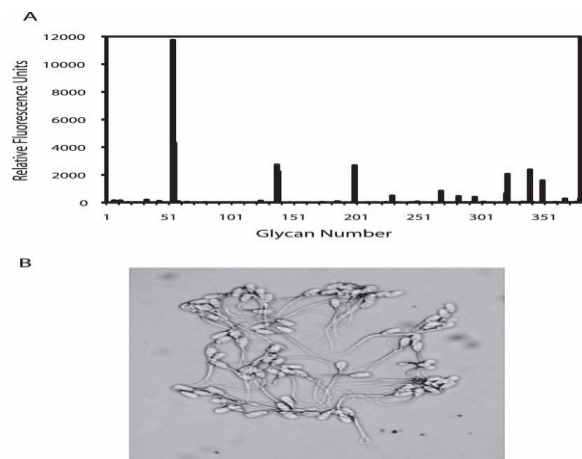
با توجه به مطالب بیان شده در بالا، به ارایه مطالبی در خصوص ذخیره اسپرم، عملکرد اپیتلیوم اویداکت در اتصال و ذخیره سازی اسپرم، تجزیه و تحلیل گلیکان‌های اسپرم خوک، رسپتورهای گلیکان‌های اویداکت در سطح اسپرم و پاسخ سلول‌های اپیتلیال اویداکت به اتصال اسپرم برای درک بیشتر مکانیسم‌های دخیل، پرداخته می‌شود. با 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 اسپرماتوزوآها 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<sup>۱۵</sup> 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 -NLTJAVL	2,068
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6 8-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 Monosialylated branched glycan, Glycan #321	
Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3 Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp12	408
Neu5Ac 2-6Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6 Monosialylated biantennary lactosamine, Glycan #296	
Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-3 Man 1-4GlcNAc 1-4GlcNAc -Sp22	1601
Gal 1-4GlcNAc 1-2Man 1-6 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 Incompletely fucosylated Lewis X-containing structure, Glycan #340	2,381
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 (3OSO3)Gal 1-4GlcNAc -Sp0 Sulfated Lewis X, Glycan #269	850
Fuc 1-3 Gal 1-4GlcNAc 1-4Gal 1-3GlcNAc -Sp0 Lewis X-Lewis A dimer, Glycan #283	463
All Remaining Glycans	<300

شکل ۱. گلیکان‌های متصل به اسپرم‌های ظرفیت‌دار نشده‌ی 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 رسپتورهای این موتیف‌ها در سر اسپرم یافت می‌شود. شکل ۳ موقعیت ۶-Sialylated Biantennary Glycan متصل به سر اسپرم را نشان می‌دهد.

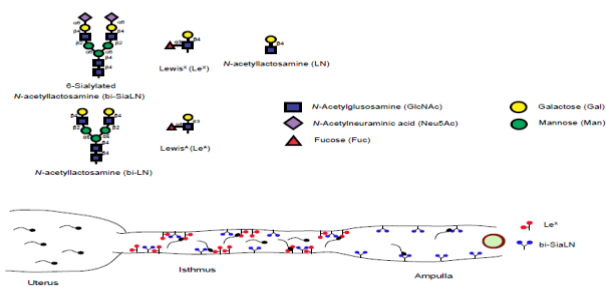
Capacitation<sup>۱۵</sup>

مجله تحقیقات پزشکی صرم

اپیتلیوم اویداکت طول عمر باروری اسپرم را طولانی می کند [۴۲]. توانایی حفظ میزان زنده ماندن اسپرم یک ویژگی مشترک کلیه سلول ها نیست [۴۳] و نیاز به تماس مستقیم بین غشای سلول های اپیتلیال اویداکت و اسپرم دارد [۴۶]. اتصال به اویداکت با مهار آزادسازی کلسیم داخل سلولی که به هنگام ظرفیت پذیری اسپرم به طور طبیعی انجام می گیرد، روی عملکرد اسپرم تاثیر می گذارد [۴۴]. شواهدی وجود دارد که نشان می دهند اتصال اسپرم به اویداکت توسط گلیکان های اویداکت میانجی گری می شود [۴۳].

### تجزیه و تحلیل گلیکان های اسپرم خوک:

تعداد بسیار بیشتری از گلیکان ها (تقریباً ۴۰۰ عدد) برای توانایی آنها در اتصال اسپرم خوک، با استفاده از یک آرایه گلیکان که برای اولین بار برای ارزیابی اینکه لکتین های<sup>۹</sup> خالص شده گلیکان ساخته می شوند، مورد آزمایش قرار گرفتند [۴۵]. تمام گلیکان هایی که اسپرم ها به آن متصل شده اند، حاوی یکی از دو موتیف گلیکان، یا یک تری ساکارید لوئیس X<sup>۲۰</sup> یا یک ساختار شاخه دار با هسته مانوز<sup>۲۱</sup> و شاخک های انتهایی در تری ساکارید لاکتوزامین<sup>۲۲</sup> می باشد (شکل ۴).



شکل ۴. ساختارهای گلیکان که اسپرم خوک را به هم متصل می کند (bi-SiaLN)، و گلیکان های مرتبط با آن (LeX و LN). bi-SiaLN به وفور در اپیتلیوم آمپولا و ایستموس شامل سلول های مژک دار و غیر مژک دار تشخیص داده شده است. LeX در ایستموس اما نه در آمپولا تشخیص داده شده است [۴۶]

در کلیه ساختارهای حاوی اسید سیالیک<sup>۳</sup> که به اسپرم متصل می شود، اسید سیالیک به جای موقعیت سه گالاکتوز در موقعیت ۶ قرار می گیرد که نشان می دهد اتصال خاصی برای اسپرم لازم است. علاوه بر این، ساختار شاخه ای بر روی هسته مانوز لازم است [۴۲]. به منظور تأیید اینکه ایستموس، گلیکان هایی با موتیف مرتبط با اسپرم تولید می کند و برای شناسایی کل

بارور شدن و تولد نتاج<sup>۴۴</sup> دارد. محل ذخیره اسپرم بین گونه ها متفاوت است، که ممکن است مربوط به تفاوت های مورفولوژیکی دستگاه های تولید مثل ماده باشد. بعضی از گونه ها اسپرم ها را در اندام های تخصصی که غالباً لوله های کور هستند ذخیره می کنند [۱۰]. به دلیل تنوع اندام های ذخیره کننده اسپرم، مکانیسم های مورد استفاده و ذخیره سازی، توانایی ذخیره اسپرم به احتمال زیاد به طور مستقل انجام می گیرد. تکامل مکرر مکانیسم های مختلف ذخیره سازی نشان می دهد که توانایی ذخیره اسپرم می تواند به راحتی تکامل یابد [۳۵]. اما فعل و انفعالات مولکولی و سلولی که از ذخیره سازی پشتیبانی می کنند ممکن است در بین گروه های طبقه بندی، متفاوت باشد.

اویداکت به عنوان محل ذخیره اسپرم در بدن پستانداران عمل می کند. به سادگی پیدا کردن اسپرم زنده در مکانی در دستگاه تناسلی، نشان می دهد که اسپرم در آنجا حفظ می شود. 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 می شود. برای ورود به ایستموس، اسپرم باید از محل اتصال لوله رحمی عبور کند، که به نظر می رسد کنترل خاصی بر روی ورود اسپرم دارد، زیرا اسپرم موش در چندین پروتئین از جمله ADAM2، Calmegin، TACE، خارج از محل اتصال لوله رحمی کمبود نشان می دهد [۳۷، ۳۸]. وقتی اسپرم ها به اپیتلیوم اویداکت متصل می شوند برای حفظ زنده ماندن، تحرک آنها کم شده و از ظرفیت پذیری اسپرم ها ممانعت می شود [۳۹]. علاوه بر طولانی شدن زنده ماندن اسپرم، پیشنهاد شده است که محل های ذخیره اسپرم، اسپرم بارور را در گونه های پستانداران و غیر پستاندار تشخیص می دهند و انتخاب می کنند [۳۸]. در نهایت، ذخیره اسپرم، جمعیت اسپرم مناسب برای لقاح را افزایش می دهد.

### عملکرد اپیتلیوم اویداکت در اتصال و ذخیره سازی اسپرم

در پستانداران، اتصال به اپیتلیوم اویداکت تا حدودی مسؤؤل 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 جفت گیری، رونویسی از پراکسیداز را فعال می کند [۴۰]. شاید اتصال به اپیتلیوم اویداکت باعث افزایش تولید آنزیم هایی که گونه های فعال اکسیژن در اسپرم را تنظیم می کنند، شود تا طول عمر آنها طولانی شود. سر اسپرم به سلول های اپیتلیوم متصل می شود [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>

مجله تحقیقات پزشکی صرام

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 سمنال<sup>۵۵</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>۵۶</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>۱۲۱</sup>. بسیاری از الیگو ساکاریدها از طریق انتهای آسپاراژین 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>۱۲۱</sup>. ساختارهای مشابه، LeA<sup>۲۴</sup> ساکارید لاکتوزامین کمتر از ۱۰ درصد به اسپرم متصل می‌شود.

### رستورهای 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 نیتروسولوز 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

Heat Shock Protein<sup>۱۱</sup>

Lewis A (LeA)<sup>۲۴</sup>  
Seminal Vesicle<sup>۲۵</sup>

مجله تحقیقات پزشکی صرام

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, Tsolova 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 Cl. 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, Nimitz 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.