نقش تلومر در تولیدمثل

مرضیه تولائی[1]، زهرا درمیشون‌نژاد[2]، طیبه ایزدی[3]، محمدحسین نصر اصفهانی[*4,5]

۱. استادیار زیست‌شناسی علوم جانوری ـ تکوینی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست فناوری تولیدمثل، اصفهان، ایران
۲. کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری تولید مثل، اصفهان، ایران
۳. کارشناس ژنتیک پژوهشگاه رویان، پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه زیست‌فناوری مولکولی، اصفهان، ایران
۴. استاد جنین‌شناسی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست فناوری تولیدمثل، اصفهان، ایران
۵. مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۳۱

چکیده

زمینه تلومرها ساختارهای حفاظت‌شدهٔ هتروکروماتینی غیرکدشونده با تکرارهای شش نوکلئوتیدی غنی از گوانین هستند که در انتهای کروموزوم‌ها قرار دارند. این ساختار در طی تکامل حفظ شده‌اند و عملکرد آن‌ها به طول ساختار وابسته است. در سلول‌های سوماتیک، طول تلومر در هر بار تقسیم سلولی کاهش می‌یابد. کوتاه شدن بیش از حد طول تلومر باعث توقف در چرخهٔ سلولی، ناهنجاری در تفکیک شدن کروموزوم‌ها و مرگ سلولی می‌شود؛ درحالی که در سلول‌های زایا و سرطانی به‌علت فعال بودن آنزیم تلومراز، کاهش طول تلومر در آن رخ نمی‌دهد. نشان داده شده که برخی از فاکتورها ازجمله ۱. سن پدر و مادر در هنگام تولد فرزندشان، ۲. جنسیت، ۳. سابقهٔ وجود سرطان در خانواده، ۴. سندروم‌ها، ۵. مصرف سیگار، ۶. اشعهٔ X ، ۷. استرس روانی، ۸. مصرف مشروبات الکلی، ۹. عادت‌های غذایی بر طول تلومر تأثیر می‌گذارند. لذا در این مطالعهٔ مروری، نقش طول تلومر در سلول‌های زایای مردانه بحث می‌گردد.

روش کار برای این مقالهٔ مروری از اطلاعات و داده‌های مرتبط و حاصل از جست‌وجوی پایگاه داده‌های PubMed و Google Scholar، بین سال‌های ۱۹۴۱ـ ۲۰۱۶ استفاده کردیم.

یافته‌ها اندازهٔ طبیعی طول تلومر اسپرم می‌تواند نمودی از کیفیت مایع منی، توانایی لقاح و درنتیجه جنین با کیفیت خوب و حاملگی درنظر گرفته شود.

نتیجه‌گیری بررسی ساختار تلومر به‌خصوص طول تلومر، بینش جدیدی را برای درک ما از علل ناباروری ارائه می‌دهد.

کلیدواژه‌ها:
تلومر، تلومراز، اسپرم، تخمک، لقاح، باروری.

* **نویسندهٔ مسئول: محمدحسین نصر اصفهانی**
نشانی: پژوهشگاه رویان، پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل، گروه زیست‌فناوری تولیدمثل، اصفهان، ایران

تلفن: ۰۳۱-۹۵۰۱۵۶۸۲ **دورنگار:**
رایانه: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org
شناسه ORCID: 0000-0003-1983-3435
شناسه ORCID نویسندهٔ اول: 0000-0001-9954-964X

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۶، شمارهٔ ۴، مهر و آبان ۱۳۹۸، ص ۴۶۰-۴۷۶
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

۱. مقدمه

در سال ۱۹۳۸م، هرمان مولر با مطالعهٔ مگس سرکه[1] از طریق پراش پرتو اشعهٔ X متوجه شد که پایانه‌های کروموزومی با دیگر مناطق کروموزوم متفاوت هستند و در اثر پرتو X دچار حذف[2] و واژگونی[3] نمی‌شوند و این بخش از اثرات پرتو X در امان بوده است. او این پایانه‌های کروموزومی را تلومر نام‌گذاری کرد که از دو ریشهٔ یونانی "Telo" به‌معنای انتها و "mere" به‌معنای بخش تشکیل شده است [۱]. پس از آن، دانشمندان و محققان این‌گونه استدلال کردند که این پایانه‌های کروموزومی نقش بسیار مهمی در حفظ و یک‌پارچگی کروموزوم دارند و از اتصال و انفصال کروموزومی به دور هستند [۲].

تلومرها از کمپلکس پروتئین و DNA تک‌رشته‌ای با عملکردهای چندگانه تشکیل شده‌اند و در انتهای کروموزوم‌های یوکاریوتی قرار دارند. این کمپلکس‌ها از لحاظ تکاملی ساختارهای بسیار حفاظت‌شده‌ای هستند که بیانگر اهمیت فراوان آن‌هاست. قسمت DNA تلومری به‌صورت ساختارهای هتروکروماتینی (از نوع هتروکروماتینی Mini Satelite) غیرکدکننده با تکرارهای هگزانوکلئوتیدی با توالی ۵'TTAGGG ۳' هستند. طول متوسط تلومر انسانی حدود ۵ تا ۱۰ کیلوباز در سلول‌های سوماتیک و ۱۰ تا ۲۰ کیلوباز در سلول‌های زایاست [۳]. با این حال، این طول ممکن است بین سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های افراد مختلف متفاوت باشد. طول تلومر صفت پیچیده‌ای است که توسط جایگاه‌های مختلف بر روی کروموزوم‌های اتوزوم و جنسی کنترل می‌شود و به سن، جنس، سطح رادیکال‌های آزاد و سن پدر در زمان لقاح بستگی دارد. در سلول‌های سوماتیک، با هر بار تقسیم سلولی، طول تلومر کاهش می‌یابد و درصورت کوتاه شدن بیش از حد طول تلومر، پیری و آپاپتوز اتفاق می‌افتد [۴].

در هر تقسیم سلولی، بخشی از توالی‌های تلومر ازدست می‌رود [۵]. در سال ۱۹۹۶م، هی‌فلیک [۶] بیان کرد که در محیط آزمایشگاه[4] سلول‌های طبیعی حدود ۵۰ بار تقسیم می‌شوند و پس از آن وارد مرحلهٔ عدم فعالیت سلولی و پیری[5] می‌شوند. گرالدین آوبرت [۷] چنین استنباط کرد که همانندسازی انتهایی موجب کوتاه شدن تلومر در تقسیمات متوالی می‌شود و تلومر مانند یک ساعت درون‌مولکولی در روند پیری[6] نقش دارد.

بر خلاف سلول‌های سوماتیک، در سلول‌های زایا و سرطانی به‌علت فعال بودن آنزیم تلومراز، کاهش طول تلومر در آن رخ نمی‌دهد. افزایش طول تلومر تأثیر مهمی بر تمایز و تکوین گامت‌ها دارد. لذا در این مطالعهٔ مروری، نقش طول تلومر در سلول‌های زایای مردانه بحث و بررسی می‌شود.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه، بررسی متون و جمع‌بندی مقالات با استفاده از پایگاه‌های دادهٔ pubmed و google scholar صورت گرفت. همچنین در این مقاله، تقریباً از ۷۰ مقالهٔ نگارش‌یافته بین سال‌های ۱۹۶۵ــــ ۲۰۱۶ که شامل کلیدواژه‌های تلومر، تلومراز، اسپرم، تخمک، لقاح و باروری بودند، استفاده شد.

۳. یافته‌ها

۳،۱. ساختار تلومر

تلومر ساختار انتهایی کروموزوم‌های یوکاریوتی است که وظیفهٔ حمایت از کروموزوم‌ها را برعهده دارد. در انسان و مهره‌داران، تلومر از توالی غیرکدکنندهٔ غنی از گوانین شش نوکلئوتید ۳' ۵'TTAGGG تشکیل شده که به‌صورت تکرارهای پشت‌سر هم در انتهای کروموزوم قرار گرفته است. این ساختار نوکلئوتیدی همراه با گروهی از پروتئین‌ها وظیفهٔ حفاظت و پایداری کروموزوم را برعهده دارند [۵]. تلومر انتهای کروموزوم را از تجزیه شدن[7]، نوآرایی[8] و الحاق انتهایی[9] حفظ می‌کند. در سلول‌های سوماتیک، طول تلومر در هر سال ۳۰ــــ۵۰ جفت باز کاهش می‌یابد. دو مکانیسم برای چگونگی کوتاه شدن طول تلومر شناخته شده که شامل کاهش طول تلومر در هر بار تقسیم چرخهٔ سلولی و حذف سریع طول تلومر توسط تجزیهٔ تی ــ لوپ است. با این حال، در مطالعات اخیر نشان داده شده است که طول تلومر در سلول‌های سرطانی، سلول‌های بنیادی و سلول‌های جنسی کاهش پیدا نمی‌کند [۸ــ۹]. طبق بررسی‌ها، فعالیت آنزیم تلومراز (که یک رونوشت بردار معکوس است) و مکانیسم ALT[10] ـ که در ادامه شرح داده می شود شود ـ باعث حفظ طول تلومر می‌گردد [۱۰].

تلومر علاوه‌بر حفاظت کروموزوم، به‌عنوان ساعت مولکولی عمل کرده، تعداد دفعات مجاز تقسیم سلول‌ها را مشخص می‌کند. کوتاه شدن تلومر باعث ایجاد سیگنال‌های درون‌سلولی می‌شود که مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی را راه‌اندازی می‌کند. علاوه‌بر این، تلومر اولین

1. Drosophila Melanogaster
2. deletion
3. inversion
4. in vitro
5. senescence
6. aging
7. degeneration
8. rearrangement
9. end to end fusion
10. alternative lengthing telomer

محل در ژنوم هسته‌ای اسپرم برای پاسخ به سیگنال‌های تخمک[1] برای تشکیل پیش‌هسته‌ها[2]ست [۱۰].

DNA موجود در ساختار تلومر دارای چندین جایگاه اتصال برای پروتئین‌هایی به‌نام شلترین[3] است. هنگام همانندسازی کروموزوم‌ها، یک انتهای ۳'-OH تک‌رشته ایجاد می‌شود. مجموعهٔ پروتئین شلترین با کمک زیرواحدهای متصل‌شونده به تلومر به این انتهای ۳'-OH متصل می‌شوند و کلاهک کروموزومی را در انتهای کروموزوم ایجاد می‌کنند که این کلاهک باعث حفاظت از کروموزوم می‌شود [۱۱]. سفیر و لنگ [۱۱] در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که با حذف کمپلکس شلترین، کلاهک تشکیل نمی‌شود. کلاهک مانعِ بسیاری از فرایندها و مسیرها ازجمله ATM[4]، ATR[5]، NHEJ[6] و HR[7] می‌شود. ازدست رفتن عملکرد کلاهک را می‌توان با استفاده از نشانگرهای متعدد DDR[8] مانند فسفریله شدن هیستون H2AX و پروتئین ۱ متصل‌شونده به سرکوبگر تومور P53 (TP53BP1) نشان داد. کمپلکس پروتئینی شلترین از ۶ زیرواحد به‌نام‌های TRF1[9]، TRF2[10]، TIN2[11]، POT1[12]، RAP1 و PPT1 تشکیل شده است [۱۲]. TRF1 نقش اصلی محافظت از تلومر را دربرابر آنزیم‌های اگزونوکلئازی برعهده دارد و از زیرواحدهای TIN1[13] و TIN2 تشکیل شده و برای رشدونمو جنین و زنده ماندن سلول‌ها ضروری است. TRF1 علاوه‌بر نقش محافظت، به شکل‌گیری حلقهٔ تلومری[14] کمک می‌کند. مطالعات پیشین اذعان می‌کند که حذف پروتئین TRF1 در موش بر طول تلومر اثری ندارد؛ اما بیان بیش از حد آن منجر به کوتاه شدن طول تلومر می‌شود. همچنین گزارش شده است که غیرفعال شدن پروتئین TRF1 سبب مرگ جنین، نقص در رشد سلول و افزایش آپاپتوز می‌شود [۱۲ـ۱۳].

TRF2 شامل مجموعه‌ای از پروتئین‌هایی مانند RAD50 و MRE11 است که نقش بسزایی در ترمیم بخش آسیب‌دیدهٔ DNA دارد. پروتئین‌های TRF1 و TRF2 به DNA دورشته‌ای و POT1 به DNA تک‌رشته‌ای متصل می‌شوند و ایفای نقش می‌کنند [۱۳]. TRF2 در ثبات انتهای آویزان گوانینی[15] و جلوگیری از اتصالات در انتهای کروموزوم نقش دارد. همچنین این زیرواحد تأثیر مهمی در بیماری‌های انسانی ایفا می‌کند؛ برای مثال افزایش بیان آن با پیری و سرطان ارتباط مستقیم دارد. درنتیجه TRF1 و TRF2 برای تنظیم طول تلومر مورد نیاز است [۱۴].

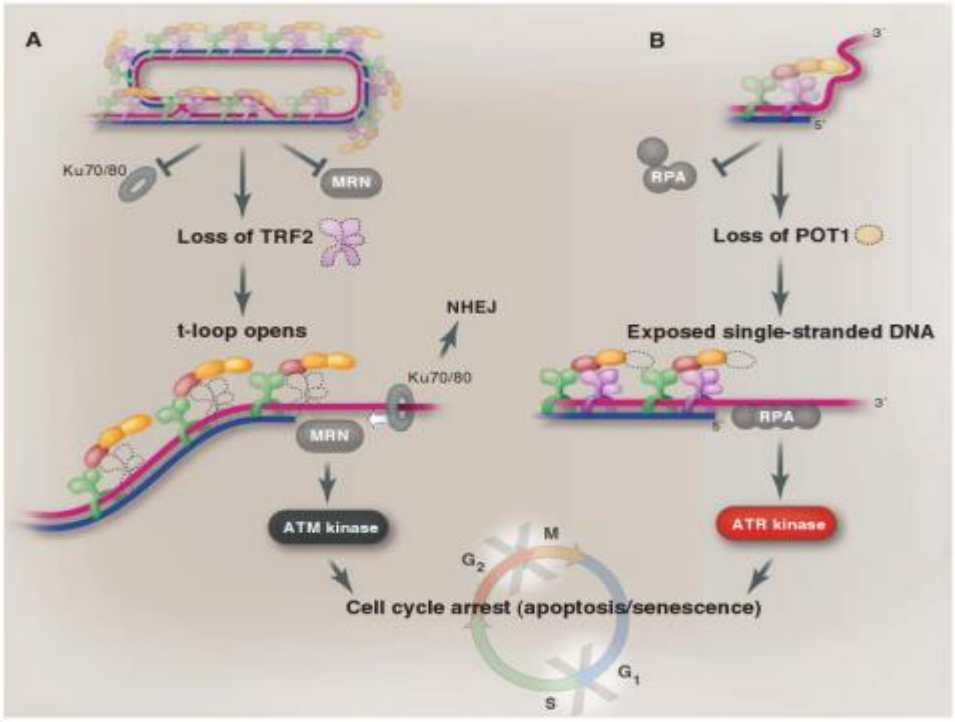
۳،۲. حفاظت انتهای کروموزوم‌ها

مسئلهٔ حفاظت انتهایی از کروموزوم‌ها برای اولین بار در اوایل قرن گذشته مطرح شد که تفاوت مشخص و مهمی بین انتهای شکستهٔ کروموزومی و تلومر مشاهده کردند. دو انتهای شکسته گرایش به ادغام شدن دارند؛ اما این تمایل درمورد کروموزوم‌هایی که دارای تلومر هستند، وجود ندارد. با این حال، کلیت مسئلهٔ حفاظت انتهایی تا زمانی که در دههٔ ۱۹۸۰ اصول پاسخ به آسیب DNA شناخته شد، مبهم بوده است [۱۵].

سلول‌های پستانداران دو مسیر پیام‌رسانی مستقل از یکدیگر دارند که توسط شکست‌های دو رشته فعال می‌شود. مسیرهای ترمیمی شکست DNA شامل ۱. ATM[16] یک مسیر کینازی است که در شکست انتهای دورشته‌ای DNA فعال می‌شود. ۲. ATR[17] یک مسیر کینازی است که در اثر شکست تک‌رشتهٔ DNA فعال می‌گردد. این شکست‌ها زمانی ایجاد می‌شوند که انتهای '۵ دو رشته بریده شده باشد. مسیر ATM و Atr بدین صورت است که وقتی DNA مورد نظر شکسته می‌شود، این دو مسیر فعال شده، باعث فسفریلاسیون P53 می‌گردند. همچنین P53 باعث فسفریله شدن P21 (یک پروتئین مهارکننده برای عملکرد نقاط نگهبان است) و فسفریله شدن CHK1,2 که در فاز G1/S (فاز رشد و سنتز) و فاز G2/M (فاز رشد و میتوز) است، می‌شود. لذا فسفریله شدن این نقاط باعث توقف سلول در این مراحل می‌گردد و زمانی که TRF2 حذف شده باشد، مسیر NHEJ، و زمانی که POT1 حذف شده باشد، مسیر HDR فعال می‌شود. بنابراین حذف مستقل دو زیرواحد پروتئین شلترین باعث فعال شدن دو مسیر (سیگنال) آسیب DNA می‌شود؛ علاوه‌بر آن، حضور TRF1 و POT1 می‌تواند آسیب‌های درون‌کروموزومی را تشخیص دهد [۱۵]. مهارکنندهٔ مسیر ATM کینازی در تلومرها توسط زیرواحد TRF2 انجام می‌شود. ازدست رفتن TRF2 منجر به فعال شدن ATM در انتهای طبیعی کروموزوم انسان و موش می‌شود [۱۶]. پیامدهای فعالیت ATM را می‌توان به‌صورت مستقیم در کانون‌های آسیب DNA که آسیب‌های کروموزومی حاوی فاکتورهایی مانند $H_2AX\gamma$ و 53BP1 هستند، مشاهده کرد. سلول‌هایی که تلومرشان فاقد TRF2 هستند، در اثر تنظیم مثبت P53 دچار توقف چرخهٔ سلولی می‌شوند. پاسخ

1. oocyte
2. pronecluos
3. shelterin
4. telangiectasia mutated ataxia
5. ataxia telangiectasia and rad3-related
6. end joining non-homologous
7. homologous recombination
8. dna damage response
9. repeat-binding factor 1 telomeric
10. telomeric repeat-binding factor 2
11. trf1-interacting nuclear protein 2
12. protection of telomeres 1
13. trf1-interactingnuclear protein 1
14 T-loop
15. G-overhang
16. ataxia telangiectasia mutated
17. ataxia telangientasia and rad3 related

به آسیب DNA در تلومر به‌طور کامل وابسته به ATM نیست؛ MRN و ku70/80 دو کمپلکس پروتئینی متصل‌شونده به DNA هستند که در زمان شکست DNA دورشته‌ای فعال می‌گردند. عوامل این کمپلکس MRN شامل MER11، Rad 50 و Nbs1 است [۱۷]. درواقع می‌توان چنین استدلال کرد که وقتی DNA مورد نظر در حالت طبیعی دچار شکست می‌شود (حذف پروتئین TRF2)، حلقهٔ تلومری باز می‌شود و کمپلکس MRN و پروتئین KU70/80 (در حالت طبیعی این پروتئین‌ها فعال نیستند) فعال می‌شوند؛ لذا باعث فعال شدن مسیر ATM کینازی می‌شود. اما فقدان POT1، منجر به فعال شدن مسیر ATR می‌انجامد و به‌دنبال آن عوامل پاسخ‌دهنده نظیر γ -H2AX، MDC1 و 53BP1 فعال می‌شوند. این دو مسیر باعث ترمیم DNA از شکست‌های دورشته‌ای میان کروموزوم‌ها می‌شود که این شکست نیازمند ترمیم DNA و تنظیم انتقالات چرخهٔ سلولی است. نه‌تنها مسیر NHEJ تهدیدی برای تلومر به‌حساب می‌آید، بلکه باعث متصل شدن تلومرها و تشکیل کروموزوم‌های حاوی دوسانترومر (دی‌سانتریک) می‌شود. کروموزوم‌های دی‌سانتریک در تقسیمات میتوزی ناپایدار هستند؛ به‌طوری که در هنگام تقسیمات سلولی (جدا شدن کروموزوم از یکدیگر) ژنوم ناپایدار می‌شود. در چرخهٔ سلولی در فاز G1 قبل از شروع همانندسازی، TRF2 در DNA یک رسپتور اصلی برای NHEJ به‌شمار می‌آید؛ درحالی که در فاز G2 بعد از همانندسازی دو پروتئین POT1 و TRF2 مسدود هستند و این فرایند به ترمیم DNA کمک می‌کند. اما درصورت حضور جهش و ناتوانایی مسیر ATR در ترمیم، باعث توقف چرخهٔ سلولی در مراحل نقاط نگهبان[1] می‌شود. بنابراین، این فرایند منجر به آپاپتوز و پیری می‌شود (شکل ۱) [۱۵، ۱۷].



شکل ۱. نقش حلقهٔ تلومری در حفاظت انتهای DNA (تلومر)

A: هنگامی که DNA دچار شکست نشده، تلومر حفظ می‌شود و هنگامی که TRF1 در تلومر حضور دارد، پروتئین KU80/70 و کمپکس MRN (Mre11-Rad 50- Nbs1) مسدود می‌گردد. درواقع کمپلس MRN توانایی شناسایی شکست و آسیب DNA را دارد و زمانی که پروتئین TRF1 حذف می‌شود، مسیر NHEJ فعال و در طی آن کمپلکس MRN و پروتئین KU80/70 فعال می‌گردد. لذا باعث فعال شدن مسیر ATM کینازی و توقف مسیر چرخهٔ سلولی، پیری و آپاپتوز می‌شود.
B: علاوه‌بر پروتئین TRF1، پروتئین POT1 نیز اهمیت بسیاری در حفاظت تلومر دارد؛ به‌طوری که درصورت نبود POT1 باعث فعال شدن پروتئین همانندساز A می‌شود و این پروتئین زمانی که DNA تک‌رشته می‌شود، متصل می‌گردد. لذا باعث فعال شدن مسیر ATR کینازی، پیری، آپاپتوز و توقف چرخهٔ سلولی می‌شود [۱۵].

۳،۲،۱. چگونگی ایجاد کلاهک

تاخوردگی رشتهٔ DNA بدین صورت است که ابتدا انتهای آزاد ۳'-OH به‌گونه‌ای خم می‌شود که DNA تک‌رشته‌ای بتواند در

1. cheak point

کنـار DNA دورشـــتـه‌ای قرار گیرد؛ لذا حلقهٔ تلومری ایجاد می‌شـــود و ســـپس هنگامی که DNA تک‌رشـــته‌ای در جای صـــحیح خود قرار گرفت، با توالی تکراری مکمل خود بر روی انتهای ۵'-OH که دورشـــته‌ای اســـت، پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. در این ســاختار، دو حلقه به‌نام‌های حلقهٔ جانشینی[1] و حلقهٔ تلومری قابل رؤیت اسـت. علت اطلاق نام حلقهٔ جانشینی این اســـت کـه در این حلقه، مارپیچ جایگزین رشـــتهٔ DNA دورشـــته‌ای می‌گردد. در حلقهٔ تلومری، ســاختار DNA چهار رشـته دیده می‌شـود که موجب پایداری بیشـتر حلقه می‌شود [۱۸]. بـا ایجـاد این حلقـه، انتهای DNA پوشـــیده و این امر موجب آزاد نبودن رشته می‌شود. حلقهٔ تلومری مستقیماً طویل شدن تلومر را کنترل می‌کند و تلومرها را از عملکرد آنزیم‌های انـدونوکلئـازی محفوظ نگه می‌دارد. تلومر به دو حالت باز (فرم مناسـب برای طویل شدن) و فرم بسته (غیرقابل دسترس برای آنزیم تلومراز) است [۱۰، ۱۹].

۳،۲،۲.پروتئین‌های متصل‌شونده به تلومر TBPs[2]

این پروتئین‌هـا بـه توالی‌هـای تلومر متصـــل و عمل حفاظت انتهـای کروموزومی از گزنـد آنزیم‌های تخریب‌کننده را برعهده دارند و درصـورت اتصال پروتئین TFR1 به TBP، باعث شکل گرفتن حلقهٔ تلومری می‌شوند. این کمپلکس انتهای کروموزوم را از DDR و شـکست دو رشتهٔ DNA محافظت می‌کند. حذف بخشـی از TPB باعث در دسـترس قرار گرفتن تلومر توسـط آنزیم تلومراز می‌شـود. لذا این فرایند باعث افزایش طول تلومر می‌گردد. اما مشاهده شده است که حذف کامل TBP به کوتاه شـدن تلومر می‌انجامد [۱۸]. قابل توجه اسـت که TBP مانند TRF2، TRF1 و KU با تلومر سـلول‌های سوماتیک در ارتباط اسـت. این مجموعه پروتئین‌ها در اسـپرم انسـان وجود ندارد و تلومر به یک نوع STBP [3] متصل است [۱۴].

افزایش طول تلومر از ۲ طریق صـــورت می‌گیرد: الف. آنزیم تلومراز؛ ب. مکـانیســـم ALT کـه در ادامـه بـه بررســـی آن می‌پردازیم.

الف. آنزیم تلومراز: آنزیم تلومراز یک ترانس کریپتاز معکوس[4] اســت که می‌تواند RNA موجود در ســاختار خود را الگو قرار دهد؛ بدین صـــورت انتهای ۳'-OH DNA را بســـط می‌دهد. درواقع این آنزیم یک نوع DNA پلی‌مراز وابسته به RNA است و ژن‌هـای کـدکننـدهٔ زیرواحدهای این آنزیم شـــامل DKC1، TERC، TERT و TEP1 اســـت. این آنزیم در مرحلهٔ $S\text{-}G_1$ از چرخهٔ سلولی بیان می‌شود و دارای ۳ جزء مهم است:

۱. TERC (hTR)[5]: این بخش از آنزیم شـــامل یک RNA به طول ۴۴۵ نوکلئوتیـد اســـت کـه فقط ۱۱ نوکلئوتیـد از آن بـه‌عنوان الگو برای بســـط انتهـای ۳'-OH و انتهـای تلومری استفاده می‌شود.

۲. Htret[6]: بخش پروتئینی آنزیم است که ۱۱۳۲ اسید آمینه با وزن مولکولی ۱۲۷ کیلو دالتون دارد. این ناحیه دارای خاصیت کاتالیکی و ترانس کریپتازی است.

۳. TEP1[7]: در عملکرد تنظیمی آنزیم فعـالیـت دارد کـه هنوز اجزای آن ناشناخته است [۲۰].

مشـکل کوتاه شدن تلومر توسط آنزیم تلومراز که منجر به اضافه شدن توالی‌های تلومری به انتهای هر کروموزوم می‌شود، برطرف می‌گردد. همـان طور کـه در بالا ذکر شـــد، این آنزیم دارای یک الگوی RNA اســـت که با انتهای ۳' الگوی رشـــتهٔ پیرو، جفت باز تشکیل می‌شود و جایگاه کاتالیک آنزیم تلومراز، دئوکســی ریبونوکلئوتیدهای TTGGGG را با اســتفاده از یک مولکول RNA به‌عنوان الگو اضـافه می‌کند (مرحلهٔ ۱). ســپس دوبلکس RNA-DNA نســـبـت بـه هم لغزیـده؛ بـه‌نحوی که TTGGGG در انتهای ۳' DNA، درحال همانندســازی با توالی RNA مکمـل در RNA تلومرازی جفـت باز تشـــکیل می‌دهد (مرحلهٔ ۲). انتهای ۳' DNA درحال همانندسازی مجدد توسط آنزیم تلومراز طویـل می‌گردد. بـدین ترتیـب، رشـــتـهٔ مقـابل گسترش پیدا می‌کند [۲].

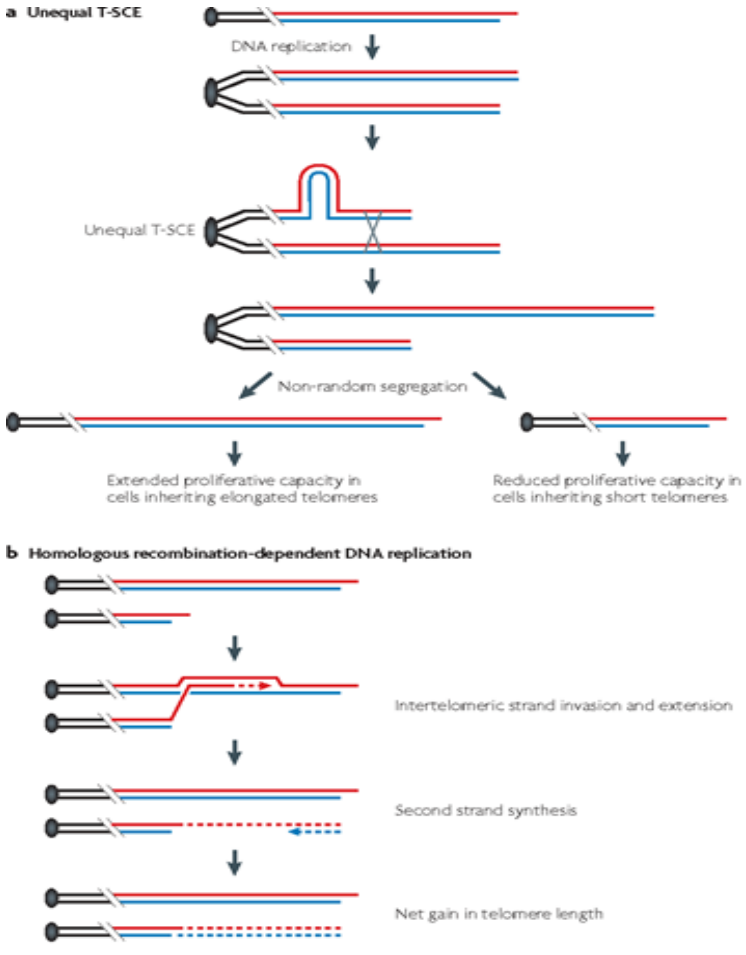
ژن آنزیم تلومراز در سلول‌های سوماتیک بیان نمی‌شود؛ اما در برخی از ســلول‌های نظیر ســلول‌های ســرطانی، ســلول‌های بنیادی، ســلول‌های زایا، ســلول‌های جنین، سلول‌های اپیدرمی پوســت و فولیکول مو، سلول‌های لنفوسیت فعال و روده روشن بوده و بیـان می‌شـــود. آنزیم تلومراز بـاعث پایداری کروموزوم می‌شـــود [۲۱]. آنزیم تلومراز دارای عملکردهایی ازقبیل مهار کردن آپاپتوز، تنظیم چرخهٔ ســلولی، تنظیم بیان ژن، تحریک پیشرفت تومور و سیگنال سلولی است.

ب. مکانیســم ALT[8]: هر مکانیسـمِ طویل شدن تلومر بدون حضـــور آنزیم تلومراز را «طویـل شـــدن جـایگزینی تلومر» می‌گویند. اســاس این مدل که ALT نام دارد، شـامل ســنتز DNA تلومری جدید براساس یک DNA الگوست. ALT دارای یک تعداد کپی‌های DNA الگوســـت و درواقع یک مکانیســـم

1. D-loop
2. telomere binding protein
3. sperm telomere binding protein (STBP)
4. reverse transcriptase
5. human telomerase
6. human telomerase reverse transcriptase
7. telomere end protein
8. alternative lengthening telomere

طویل شدن طول تلومر بدون استفاده از آنزیم تلومراز است. در این مکانیسم، طول تلومر با استفاده از کروماتیدهای خواهری از طریق فرایند «نوترکیبی» افزایش می‌یابد (شکل ۲-الف) [۱۵]. یکی از ویژگی‌های غیرمعمول مکانسیم ALT، الگو قرار دادن DNAهای خارج کروموزومی با توالی تلومری است که شامل توالی تلومری دورشته‌ای به‌نام حلقهٔ C، و تک‌رشته‌های جزئی حلقوی (با میزان غنی بودن نوکلئوتیدهای G یا C که به‌ترتیب حلقهٔ G و حلقهٔ C نام می‌گیرد، در ارتباط است) می‌باشد. پیکت و همکاران [۹] در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که سلول‌های دارای فرایند ALT بیشتر از سلول‌های فاقد این فرایند، دارای حلقهٔ T است و این حالت به‌علت رخ دادن نابه‌جای پدیدهٔ نوترکیبی در این سلول‌هاست. مطالعات اخیر اذعان کرده‌اند که در سلول‌های انسانی با فعالیت آنزیم تلومرازی، افزایش طول تلومر به کمک حلقهٔ T اتفاق می‌افتد [۹، ۲۱]. بین میزان حلقهٔ C یا حلقهٔ G و مکانیسم ALT رابطهٔ مستقیمی وجود دارد. نبود تلومراز در سلول‌های غیرنرمال باعث فعال شدن مکانیسم ALT می‌گردد. لذا درصورت فقدان هرگونه مارکر در این مکانیسم، حلقهٔ C پیدا می‌شود و پیشنهاد شده است این حلقه می‌تواند یک مارکر اختصاصی برای مکانیسم ALT محسوب شود؛ اگرچه درصورت مهار شدن مکانیسم ALT، حلقهٔ C در سلول‌ها ناپدید می‌شود [۲۲].

به‌طور کلی دو مکانیسم برای افزایش ALT پیشنهاد شده است: الف. غیرتساوی بودن کروماتید خواهری ($TSCE_s$)[1] (شکل ۲.a)؛ ب. مدل همانندسازی DNA وابسته به نوترکیبی همولوگ (شکل ۲.b) [۲۲-۲۴].



شکل ۲.a. غیرتساوی بودن کروماتید خواهری (فرایند T-SCE)

شکل ۲.b. مدل همانندسازی DNA وابسته به نوترکیبی همولوگ

کروموزوم‌ها برای طویل‌تر شدن طول تلومر خود، تلومر کروموزوم خواهری خود را الگو قرار می‌دهند. لذا این مکانیسم

1. telomere of the sister chromatid

باعث می‌شود انتهای یکی از کروماتیدهای خواهری بلندتر از انتهای کروماتید خواهری دیگری شود و این مورد باعث تفاوت در طول تلومر می‌گردد.

در این فرایند تلومر کروموزم دیگر الگو قرار می‌گیرد [۲۶].

الف. نامساوی بودن کروماتید خواهری: این مکانیسم ALT در شرایط همولوگ بودن کروماتیدهای خواهری، زمانی رخ می‌دهد که سلول دارای فعالیت تلومرازی طبیعی خود باشد. از لحاظ مولکولی استنباط می‌شود که مکانیسم نامساوی بودن کروماتید خواهری و نتیجهٔ نوترکیبی آن باعث ترمیم شکست چنگال همانندسازی می‌شود. شواهدی وجود دارد که DNA تلومری در سلول‌های ALTدار ممکن است دچار شکاف و جاهای خالی گردد که چه بسا موانع ساختاری در همانندسازی باعث ایجاد T-SCEs شود [۲۵]. صرف‌نظر از مکانیسم T-SCEs، افزایش ALT در سلول منجر به فرضیهٔ نابرابری T-SCEs می‌شود که می‌تواند منجر به تشکیل یک سلول دختری شود که دارای طول تلومری بلند با افزایش ظرفیت تکثیر است و سلول دختری دیگر دارای طول تلومری کوتاه با کاهش ظرفیت تکثیر می‌شود. درواقع تفکیک کروموزوم‌ها به‌صورت تصادفی رخ می‌دهد و منجر به ایجاد سلول‌های دختری نابرابر می‌شود. این فرایند در سلول‌های ALTدار بیشتر از سلول‌های نرمال که دارای فرایند تلومراز است، رخ می‌دهد (شکل ۲ـa) [۲۶].

ب. مدل همانندسازی DNA وابسته به نوترکیبی همولوگ: این فرضیه بدین صورت است که ALT نتیجهٔ نوترکیبی و سنتز DNA تلومری جدیدی است و از تلومر کروموزوم دیگر به‌عنوان الگو استفاده می‌کند. اما در مطالعات پیشین نشان داده شده که کروموزوم‌ها به الگوی تلومری کروموزوم دیگر نیازی ندارند (شکل ۲ـb) [۲۵، ۲۷]. فرضیهٔ نوترکیبی همولوگی دارای چهار زیرمجموعه است:

۱. افزایش طول تلومر از طریق شکل‌گیری حلقهٔ تلومری: براساس مطالعات اخیر نشان داده تلومر می‌تواند بدون دخالت عناصر از طریق حلقهٔ تلومری خود گسترش یابد در این مدل از حلقهٔ تلومری به‌عنوان الگو استفاده می‌شود و DNA تلومری خود را گسترش می‌دهد (شکل ۳ـa).

۲. افزایش طول تلومر از طریق کروماتیدهای خواهری:[1] در این نظریه، تلومر از کروماتیدهای خواهری به‌عنوان الگوی مستقیم استفاده می‌کند (شکل ۳ـb).

۳. افزایش طول تلومر از طریق DNA خطی کروموزوم خارجی:[2] در این فرضیه، یک کروموزم با کروموزوم خارجی که در DNA تلومری خود شکست دارد، نوترکیبی انجام می‌دهد و این فرایند به طویل شدن طول تلومر منجر می‌شود (شکل ۳ـc).

۴. افزایش طول تلومر از طریق حلقهٔ DNA خارج کروموزومی: این فرایند نشان می‌دهد که یک کروموزوم با حلقهٔ DNA تلومری کروموزوم دیگر همانندسازی می‌کند و این عامل باعث طویل شدن تلومر می‌شود (شکل ۳ـd) [۲۸].

بیشتر سلول‌ها در بافت‌ها و اندام‌ها فعالیت تلومراز و مکانیسم ALT را ندارند و این سلول‌ها فعالیت خود را ادامه می‌دهند و درنهایت منجر به پیری می‌شوند. مطالعات نشان داده است تحت شرایط آزمایشگاهی، ۸۵٪ از سلول‌های سرطانی دارای فعالیت تلومرازی هستند؛ درحالی که فقط ۱۵٪ از آن‌ها مکانیسم ALT را دارند که ازجمله سرطان پستان، سرطان سلول‌های بنیادی مزانشیمی، تومورهای مغزی و سرطان بافت نرم سارکوم و... را می‌توان نام برد [۲۸].

با توجه به مطالب ذکرشده، طول تلومر علاوه‌بر سلول‌های سوماتیک، در سلول‌های زایا نقش بسزایی دارد که در گامت نر عملکرد متفاوتی را با سایر سلول‌ها نشان می‌دهد. این نقص و کمبود در طول تلومر می‌تواند مرتبط با علت ناباروری باشد. در ادامه به پاره‌ای از این موارد اشاره می‌شود:

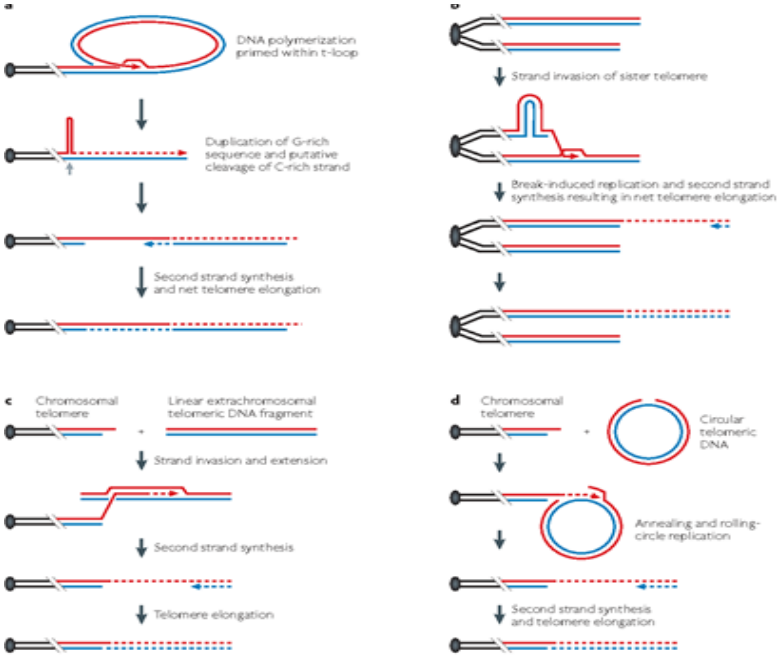
در انسان، طول تلومر در سلول‌های سوماتیک بین ۵ـ۱۰ کیلو باز تخمین زده شده است [۳]. در هر سال، ۳۰ـ۵۰ جفت باز کاهش پیدا می‌کند و زمانی که تلومرها به حداقل طول حیاتی خود رسیدند، تقسیم سلولی متوقف و تحت فرایند آپاپتوز قرار می‌گیرند. اما در مطالعات اخیر دیده شده است که طول تلومر در سلول‌های سرطانی، سلول‌های بنیادی و سلول‌های جنسی کاهش نمی‌یابد [۸]. به‌طور کلی می‌توان چنین استنباط کرد که تلومر مانند یک ساعت درون‌مولکولی عمل می‌کند و در روند پیری نقش برجسته‌ای دارد [۱۰].

۳،۳. نقش تلومر در اسپرم

اسپرم پستان‌داران سلول‌های بسیار تمایزیافته‌ای هستند که طی فرایند بسیار پیچیده‌ای به‌نام اسپرماتوژنز[3] ایجاد می‌شوند. اسپرماتوژنز مجموعهٔ پیچیده از مراحل مختلف ازجمله میتوز، میوز و اسپرمیوژنز است. اختلال در روند اسپرماتوژنز تولید اسپرم را تحت تأثیر قرار می‌دهد و به ناباروری می‌انجامد [۲۹]. در طی فرایند میوز اسپرماتوژنز، سلول‌ها به‌صورت دیپلوئید هستند و طی دو سری تقسیم میوزی سلول‌های اسپرماتوسیت تولید می‌شوند. تقسیم میوز چهار مرحلهٔ لپتوتن، زیگوتن،

1. linear extrachromosomal telomeric
2. circular extrachromosomal telomeric
3. spermatogenesis

پاکی‌تن و دیپلوتن دارد؛ همچنین دارای مرحلهٔ دیاکینز (تقسیم سیتوپلاسم) است [۳۰].



شکل ۳. فرضیهٔ نوترکیبی همولوگی

a: افزایش طول تلومر از طریق حلقهٔ تلومری؛ b: افزایش طول تلومر از طریق کروماتیدهای خواهری؛ c: افزایش طول تلومر از طریق DNA خطی کروموزوم خارجی؛ d: افزایش از طریق حلقهٔ DNA خارج کروموزومی [۲۶]

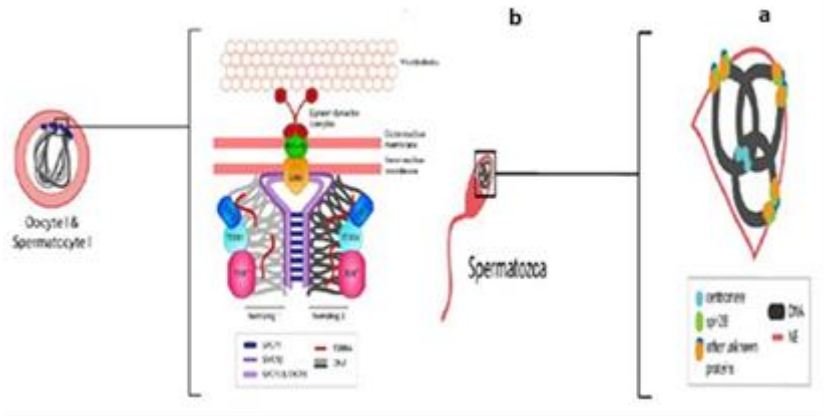
در مرحلهٔ لپتوتن، کروموزوم‌ها شروع به متراکم شدن می‌کنند. جفت شدن کروموزوم‌های همولوگ در لپتونما با تشکیل یک داربست پروتئینی در طول کروموزوم‌ها آغاز می‌شود که این داربست پروتئینی از کوهزین‌ها و پروتئین‌های خاص کمپلکس سیناپتونمال تشکیل شده است. نقش این پروتئین‌ها حفاظت از کروموزوم‌ها در طول تقسیم میوز است. بلافاصله پس از آن در مرحلهٔ زیگوتن جفت کروموزوم همولوگ تشکیل می‌گردد [۳۱]. لودروس [۳۲] در سال ۱۹۹۶ بیان کرده است که تلومرها در مرحلهٔ زیگوتن به غشای هسته متصل می‌شوند و اتصال تلومر به غشای هسته باعث کاهش آسیب آن می‌گردد.

همان‌طور که می‌دانیم، غشای هسته‌ای شامل منافذ هسته‌ای و همچنین طیف گسترده‌ای از پروتئین‌هایی به‌نام کمپلکس ارتباطی[1] است که حاوی پروتئین SUN و KASH می‌باشد و و به‌صورت مکانیکی با اسکلت سلولی ارتباط دارد. در داخل هسته، غشای هسته با لامین احاطه شده است. پروتئین‌های دارای دومین SUN در شبکهٔ آندوپلاسمی سنتز می‌شوند و در غشای داخلی هسته با لامین‌ها همراه می‌گردند. پروتئین‌های نسپرین که حاوی KASH هستند، در غشای خارجی قرار می‌گیرند. دومین KASH می‌تواند با SUN ارتباط برقرار کند. نسپرین به‌صورت مستقیم و یا از طریق پروتئین‌های آداپتور با رشته‌های حد واسط اکتین و میکروتوبول اتصال برقرار می‌کند. این اتصالات برای جابه‌جایی هسته، قرارگیری صحیح و انتقال هسته کاربرد دارد [۳۳].

همچنین مطالعات و شواهد نشان می‌دهد پروتئین‌های شلترین در اتصال تلومر به پوشش هسته‌ای تأثیر ندارد؛ بلکه پروتئین هیستونی ۲ (HB2) نیز در این فرایند دخیل است. گفتنی است که کروموزوم‌هایی که فاقد تلومر هستند یا تلومر کوتاهی دارند، نمی‌توانند به نواحی غشای هسته متصل شوند. در اووسیت و اسپرماتوژنز در هنگام تقسیم میوز، تلومرها به غشای هسته متصل می‌شوند. تلومرها از طرق پروتئین SUN2، SUN1 و KASH5 به غشای هسته متصل و باعث تحریک در حرکت میکروتوبول‌ها می‌شوند. این فرایند در زمان لقاح بسیار اهمیت دارد؛ زیرا از طریق حرکت میکروتوبول‌ها سیگنال‌هایی به‌سمت تخمک فرستاده و باعث لقاح می‌شود (شکل a.۴). تلومرها به غشای هسته‌ای متصل شده‌اند و تا زمانی که اسپرم بتواند وارد تخمک شود، این اتصال باقی می‌ماند. زمانی که وارد تخمک

1. complex link

شد، درصورت مناسب بودن طول تلومر، سیگنال‌هایی ایجاد می‌شود؛ بنابراین لقاح رخ می‌دهد و پرونوکلئوس تشکیل می‌شود. علاوه‌بر پروتئین‌های ذکرشده، عامل دیگر دخیل در این مکانیسم، TERRA[1] است. TERRA در زمان تقسیم سلولی در پروفاز میوز I در اسپرماتوسیت و اووسیت یافت شد و براساس آزمایش‌های تجربی و تجزیه و تحلیل توسط Q-PCR بر روی موش‌ها، بیشترین میزان در اسپرماتوسیت است و این میزان تا زمان آغاز فرایند اسپرمیوژنز کاهش می‌یابد. پس در دو حالت افزایش سطح TERRA مشاهده می‌شود: ۱. مرحلهٔ اول پروفاز I: در این حالت ساختار تلومر محافظت می‌شود و این ساختار باعث حفظ طول تلومر و پیشرفت میوز می‌شود. ۲. پس از تقسیم میوز در آغاز اسپرمیوژنز، این مسئله بیانگر آن است که ساختار تلومر به‌طور مستقیم بر حضور TERRA در هسته اثر می‌گذارد. دنگ و همکاران [۳۴] در سال ۲۰۱۲ متوجه شدند زمانی که تلومرها دچار نقص می‌شوند، TERRA فعال می‌گردد و هنگام رهایش TERRA، سیگنال‌هایی برای فراخوانی تلومراز ایجاد می‌شود تا بتواند تلومر آسیب‌دیده را ترمیم کند؛ به‌طوری که هرگونه نقص در تلومر باعث اختلال در سیناپس کروموزوم‌های نوترکیب همولوگ و شکل‌گیری دوک می‌شود و همچنین درصورت بالا بودن میزان آسیب DNA، در مراحل رشد و تکوین جنین اثرگذار خواهد بود. مشاهدات نشان می‌دهد طول تلومر به‌طور مستقیم با کیفیت جنین ارتباط دارد (شکل b.۴) [۳۴ـ۳۵].همچنین تفاوت گروه آزمایش و گروه گواه، از لحاظ متغیر حساسیت اضطرابی در سطح $p<۰/۰۵$ معنادار است. به‌علاوه ضریب اندازهٔ اثر نشان می‌دهد که ۶۱٪ تفاوت دو گروه در مرحلهٔ پس‌آزمون از نظر متغیر حساسیت اضطرابی مربوط به مداخلهٔ آزمایشی است و توان آماری برابر با ۷۱٪ است.



شکل ۴. ساختار تلومر

a: ساختار تلومر در اسپرم؛ b: نحوهٔ ایجاد سیگنال در فرایند لقاح [۳۳]

در طی مرحلهٔ پاکی‌تن، سیناپس‌ها کامل می‌شوند و نوترکیبی و کراسینگ‌آور بین کروموزوم‌های همولوگ اتفاق می‌افتد. درنهایت در مرحلهٔ دیپلوتن، سلول‌ها تقسیم و اسپرماتوسیت ثانویه تولید می‌شود. پس از اولین میوز این سلول‌ها وارد میوز دوم شده، بدون سنتز DNA درنهایت اسپرماتید هاپلوئید نابالغ تولید می‌شود [۲۹]. در طی مرحلهٔ سوم، اسپرماتوژنز که اسپرمیوژنز است، اسپرماتید کروی به اسپرم تمایز می‌یابد که در طی این مرحله تراکم کروماتین رخ می‌دهد و هیستون‌ها با پروتامین‌ها جایگزین می‌شود. حال هرگونه کمبود و نقص در طی این جابه‌جایی می‌تواند به تراکم غیرطبیعی کروماتین اسپرم منجر شود که فرایند لقاح و باروری را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۳۶ـ۳۸]. به‌علاوه کمبود پروتامین در اسپرم ممکن است به DNA آسیب برساند که خود می‌تواند یکی از علل اصلی کاهش حاملگی و سقط مکرر باشد [۳۹]. مطالعات اخیر گویای آن است که رابطهٔ معکوسی بین اسپرم‌های حاوی آسیب DNA و کمبود پروتامین با طول تلومر وجود دارد [۴۰]. مشاهدات تجربی نشان می‌دهد طول تلومر اسپرم طویل‌تر از طول تلومر سلول‌های سوماتیک است. مطالعات دربارهٔ حذف تلومراز در اسپرم موش نشان داده است اسپرماتوسیت‌ها در مرحلهٔ پاکی‌تن شکسته می‌شوند؛ همچنین اسپرماتید با سر گرد دارای بیان بالای تلومراز است [۳۵]. اهمیت تلومر در باروری و توسعهٔ جنین در موش‌ها نشان

1. telomeric reapet cotanining RNA

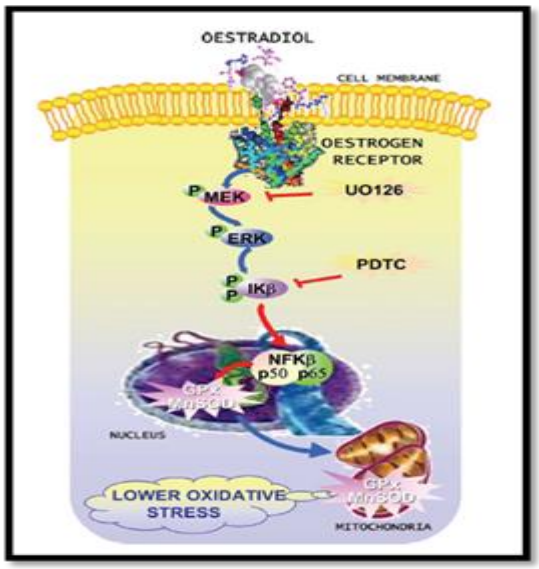
می‌دهد که کوتاه بودن طول تلومر در اسپرم باعث رشد غیرطبیعی و مرگ در جنین‌های موش می‌شود [۴۱]. کوتاه بودن طول تلومر، شکسته شدن سیتوپلاسم و تغییر در مورفولوژی بلاستوسیت و آپاپتوز مشاهده می‌شود؛ بدین صورت که طول تلومر بر سیتوپلاسم جنین اثر می‌گذارد و منجر به قطعه‌قطعه شدن آن می‌شود. اما دیوید کیفه [۴۲] بر این باور است که تغییر در مورفولوژی بلاستوسیت ممکن است به‌علت کوتاهی طول تلومر، اختلال در تشکیل دوک و یا آنیوپلوئیدی منجر به آپاپتوز بلاستوسیت باشد. این یافته‌ها نشان داده است که طول تلومر نقش بسیار مهمی را در باروری ایفا می‌کند. لذا هرگونه آسیب و کوتاه‌شدگی در تلومر و آسیب در DNA اسپرم باعث خطا در تقسیم میوز می‌شود و آنیوپلوئیدی را به‌وجود می‌آورد [۴۳]. همان‌طور که می‌دانیم، تلومر در حفظ و نگه‌داری و یک‌پارچگی ژنوم اهمیت زیادی دارد. لذا اسپرم با طول تلومر کوتاه دچار آسیب DNA می‌شود. بنابراین آسیب DNA اسپرم ممکن است موجب عواقب شدیدی در زمان لقاح شود. طول تلومر توسط آنزیم تلومراز حفظ می‌شود و ممکن است در افراد مختلف متفاوت باشد. مشاهدات مبنی بر این است که آنزیم تلومراز در سلول‌های زایا بیان بیشتری در مقایسه با سلول‌های سوماتیک دارند و روزانه به‌طور متوسط ۵میلیون اسپرم تولید می‌شود و درصورت کاهش بیان آنزیم تلومراز، منجر به خطا در تفکیک جدایی آلل‌ها، کاهش اسپرم، آپاپتوز و اختلال در باروری می‌گردد [۴۴]. در مطالعه‌ای، میانگین طول تلومر در سلول‌های زایا در طی فرایند اسپرماتوژنز نشان می‌دهد که اسپرماتوگونی‌ها میانگین طول بالایی دارند و این مقدار تا مرحلهٔ اسپرماتوسیت اولیه افزایش می‌یابد و سپس در مرحلهٔ آخر و با تمایز به اسپرم کاهش می‌یابد؛ به‌گونه‌ای که مقدار میانگین طول تلومر در اسپرم از میانگین طول تلومر در اسپرماتوگونی کمتر است. درخور توجه است که طول تلومر اسپرم در مردان سالمند به‌طور چشمگیری بلندتر از مردان جوان است و فرزندان حاصل از اسپرم پدران مسن‌تر نیز طول تلومر بلندتری را در سلول‌های خود نشان می‌دهند [۴۵]. بااینکه هنوز مکانیسم تلومرهای بلندتر در اسپرم مردان مسن‌تر به‌خوبی شناخته نشده، طویل شدن تلومر در طی اسپرماتوژنز به‌علت اضافه شدن عناصر تکرارشونده در انتهای کروموزوم توسط تلومراز است [۴۶]. همچنین از تجزیه و تحلیل طول اسپرم در مقایسه با پارامترهای معمول اسپرم متوجه شدند رابطه‌ای معنادار و مثبت بین طول تلومر اسپرم و تعداد اسپرم وجود دارد [۴۷]. یانگ و همکاران [۴۶] در سال ۲۰۱۶ متوجه شدند که طول تلومر با وزن رابطهٔ مثبت و معناداری دارد؛ به‌طوری که با افزایش وزن، شکست DNA افزایش می‌یابد و طول تلومر کوتاه‌تر می‌شود [۴۶]. روکا و همکاران [۴۰] پیشنهاد کردند که طول تلومر را می‌توان به‌عنوان یک مارکر برای اسپرماتوژنز طبیعی درنظر گرفت. همچنین ارتباط معناداری با پارامترهای اسپرم دارد؛ به‌طوری که مطالعات پیشین اذعان داشته‌اند که طول تلومر سلول‌های زایا می‌تواند بر لقاح و تکوین جنینی در موش و انسان تأثیر بگذارد [۴۸، ۴۰]. بنابراین انتخاب اسپرم‌ها با طول تلومر طویل می‌تواند یکی از مارکرهای مهم جهت بهبود تکنیک‌های کمک‌باروری برای درمان افراد نابارور باشد [۴۶]. درحال حاضر حدود ۱۵٪ از زوج‌ها با مشکلات ناباروری مواجه‌اند که به‌علت‌های فاکتورهای زنانه یا مردانه است. می‌توان به‌منظور درمان ناباروری از تکنیک‌های کمک‌باروری استفاده کرد. تکنیک تزریق اسپرم به داخل تخمک یا ICSI[1] بیشتر جهت درمان افراد نابارور با فاکتورهای مردانه استفاده می‌شود که منجر به افزایش میزان لقاح و باروری می‌گردد. با این حال ۱ـ۳٪ شکست در لقاح پس از ICSI مشاهده شده است که این ناکامی وابسته به عوامل مختلفی ازجمله فاکتورهای وابسته به تخمک (مانند ناهنجاری مورفولوژی تخمک، عدم بلوغ و واکنش ضعیف تخمدان)، فاکتورهای وابسته به اسپرم (مانند ناهنجاری در ساختار اسپرم و تحرک آن، فقدان فاکتورهای فعال‌سازی تخمک، نقص در ساختار کروماتین و آسیب DNA اسپرم) و علل ناشناخته است. در چند گروه از افراد نابارور، کاهش و یا عدم موفقیت لقاح پس از ICSI در افراد تراتوزواسپرمی، گلوبوزواسپرمی، افراد با پارامترهای طبیعی و غیرطبیعی مشاهده شده است [۴۹ـ۵۲]. علاوه‌بر این، در شرایط واریکوسل (یک ناهنجاری عروقی در سیستم وریدی بیضه و اتساع غیرطبیعی رگ‌ها، پیچش رگ‌های پامپینی فرم و یا شبکهٔ وریدی)، نیز کیفیت پارامترهای اسپرمی کاهش می‌یابد. این نوع ناباروری یکی از شایع‌ترین علت‌های ناباروری در مردان شناخته شده است [۵۰]. اخیراً مشخص شده که در افراد ناباروری که با شکست قبلی لقاح ICSI مواجهه بوده‌اند و همچنین در افراد مبتلا به واریکوسل، میانگین طول تلومر به‌طور معنادار پایین‌تر از افراد بارور است [۴۹ـ۵۲]. البته در افراد مبتلا به واریکوسل هنوز مکانیسم اصلی ایجادکنندهٔ اختلال در عملکرد طبیعی بیضه‌ها مشخص نیست. همچنین افزایش درجه حرارت بیضه ناشی از تغییر در جریان خون است. در اکثر پستان‌داران، بیضه‌ها که محل وقوع اسپرماتوژنز است، در کیسهٔ بیضه و خارج از حفرهٔ بدن قرار دارند. دمای کیسهٔ بیضه معمولاً ۲ـ۴ درجه

1. intra cytoplasmic sperm injection

سانتی‌گراد پایین‌تر از دمای بدن است و دمای بیضه‌ها با یک سیستم تبادل حرارتی تنظیم می‌شود. گرما باعث کاهش میزان باروری یا ایجاد ناباروری در مردان و آسیب‌رسانی به DNA اسپرم می‌شود و تعداد اسپرم‌ها از طریق آپاپتوز سلول‌های زایا کاهش می‌یابد [۵۳]. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش دما در بیضهٔ این افراد می‌تواند بر بیان ژن و پروتئین تأثیرگذار باشد. افزایش دمای بیضه و به‌دنبال آن افزایش سطح استرس اکسیداتیو در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل مکرر گزارش شده؛ به همین دلیل است که درصد آسیب DNA اسپرم در این افراد به‌طور معناداری بالاتر از افراد بارور است [۵۴]. مطالعات اخیر رابطهٔ عکس معناداری را بین استرس اکسیداتیو و طول تلومر نشان داده و اذعان کرده‌اند که افزایش سطح ROS به کوتاه شدن طول تلومر منجر می‌شود. با توجه به اینکه افراد مبتلا به واریکوسل با افزایش استرس اکسیداتیو مواجه هستند، یک علت ناباروری آن‌ها می‌تواند کاهش طول تلومر باشد که لازم است در آینده در این زمینه مطالعات بیشتری انجام شود [۵۵].

۳،۴. نقش تلومر در تخمک

تلومر نقش مهمی را در اووژنز ایفا می‌کند و طول آن بستگی به فعالیت آنزیم تلومراز دارد. نبود این آنزیم به‌طور مستقیم بر طول تلومر، ناهنجاری کروموزومی و آنیوپلوئیدی تأثیر می‌گذارد [۵۵ـ۵۶]. مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که طول تلومر در تخمک موش کوتاه است؛ اما در مرحلهٔ زیگوت و دوسلولی به‌طور معناداری طویل‌تر است [۵۶]. همچنین پیشنهاد شده است که از طریق اندازه‌گیری طول تلومر تخمک می‌توان میزان عمر باروری را تعیین کرد [۴۹]. کوتاه بودن طول تلومر در تخمک به این علت است که جدا شدن سلول‌های گرانولوزا از فولیکول مقدار بیان آنزیم تلومراز کاهش می‌یابد. علاوه‌بر این، دانشمندان معتقدند اختلال در میتوکندری تخمک و همچنین بالا بودن میزان گونه‌های فعال اکسیژن باعث کوتاهی طول تلومر می‌شود. در مطالعات اخیر برآورد کرده‌اند که کاهش فعالیت تلومراز یکی از علل اصلی آپاپتوز در سلول‌های زایاست [۵۷ـ۵۹]. آزمایش‌های جوزه وینا و همکاران [۶۱] در سال ۲۰۰۵ نشان می‌دهد بعد از تخمک‌گذاری، میتوکندری تخمک H_2O_2 تولید می‌کند. در پاسخ به آن، استروژن که یکی از قدرتمندترین آنتی‌اکسیدان‌ها در داخل بدن است، رها شده، بر روی غشای سلول به گیرندهٔ خود متصل می‌شود. سپس مسیر ERK فعال می‌گردد که خود باعث فعال شدن NFKB می‌شود. در ادامه دو فاکتور رونویسی به‌نام‌های P50 و p65 به‌سمت هسته حرکت می‌کنند و باعث بیان آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز[1] و منگز سوپراکسید دیسموتاز[2] و لذا سبب کاهش استرس اکسیداتیو و ROS می‌شوند. این مکانیسم کاهش ROS در میتوکندری تخمک علت طویل‌تر بودن تلومر در تخمک نسبت به اسپرم است (شکل ۵) [۶۰ـ۶۱].



شکل ۵. مکانیسم پیشنهادی برای عمل استرادیول[3] در بیان آنتی‌اکسیدان، به‌همراه ژن‌های مربوط به طول عمر [۶۱]

براساس مطالعات تجربی مقایسه بین پیش‌هستهٔ نر و ماده در گاو در هنگام لقاح، دیده شده که طول تلومر اسپرم کوتاه‌تر از طول تلومر تخمک بالغ است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که طول تلومرها در زنان، به‌دلیل سطح بالای هورمون استروژن که

1. glutathione peroxidas
2. dismutase (MNSOD) mn-superoxide
3. oestrogen

دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است، بلندتر از مردان است [۶۲]. قابل توجه است که طول تلومر در بلاستوسیت بلندتر از طول تلومر در مرحلهٔ کلیواژ است؛ لذا می‌توان چنین برآورد کرد که طول تلومر در سرتاسر مراحل مختلف رشد جنین متفاوت است [۶۳].

با این حال، محققان بر این باورند که کنترل طول تلومر در تخمک ناشناخته است و با سن زن ارتباطی ندارد [۵۶]. با توجه به مطالب گفته‌شده می‌توان چنین استنباط کرد که طول تلومر در تخمک بر میزان رشد مناسب و کیفیت خوب جنین تأثیرگذار است [۶۴ـ۶۵]. درواقع طول تلومر پیش‌بینی‌کنندهٔ طول عمر افراد است. مشاهدات گلبول قرمز گوره‌خر نشان داد که طول تلومر می‌تواند در اوایل زندگی، طول عمر را پیش‌بینی کند. اثر طول تلومر در تولیدمثل پرندگان به‌گونه‌ای است که پرندگان با طول تلومر طویل، طول عمر بیشتری از پرندگان با طول تلومر کوتاه‌تر دارند و همچنین دارای قدرت تولیدمثل بیشتری هستند [۶۵ـ۶۶]. همانند اسپرم، ارزیابی طول تلومر در اووسیت را می‌توان به‌عنوان یک پیشگویی‌کننده در باروری درنظر گرفت. دیوید کیف [۴۲] در سال ۲۰۰۵ با استفاده از تخمک بیماران در لقاح آزمایشگاهی (IVF) گزارش کرده است که انتقال جنین‌هایی با حداکثر طول تلومری ۶ـ۷ کیلوباز دچار شکست در لقاح شده‌اند. سامانتا باتس [۵۹] در سال ۲۰۰۹ اثبات کرد زنان دارای طول تلومری کوتاه فعالیت تلومرازی‌شان بسیار کاهش یافته است. همچنین نشان داده‌اند که مادرانی که در سن بالا باردار می‌شوند و دارای فرزند سندروم دان هستند، در مقایسه با مادرانی که در سن پایین باردار شدند، طول تلومر کوتاه‌تری دارند. همچنین طول تلومری لوکوسیت فرزندان از طول تلومر لوکوسیت مادرهایشان کوتاه‌تر است [۵۹]. هانا [۶۶] در سال ۲۰۰۹ و همچنین تیلاگاواتی و همکاران [۳۹] در سال ۲۰۱۳ متوجه شده‌اند که طول تلومر لوکوسیت آن‌ها پایین‌تر از طول تلومر لوکوسیت گروه شاهد است؛ لذا می‌توان چنین استنباط کرد که از طریق طول تلومر می‌توان میزان باروری و پیری را تعیین کرد. همچنین در افرادی که دچار سقط مکرر هستند، طول تلومری اووسیت ارتباط مستقیم با طول تلومر جسم قطبی دارد و از طریق اندازه‌گیری طول تلومر آن، می‌توان کوتاه بودن طول تلومر را نشان داد [۳۹، ۶۶].

عوامل مختلفی با کوتاه شدن طول تلومر مرتبط است؛ ازجمله استرس اکسیداتو، پیری، استرس روانی، چاقی، عفونت، سیگار، سبک زندگی، رژیم غذایی و... که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم طول تلومر را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۹]. تغییر ژنتیکی یکی از علل اصلی تغییرات در طول تلومر است. براساس نظریات مطرح‌شده، جهش در ژن CLK2 بر طول تلومر تأثیر می‌گذارد و بیان بیش از حد آن باعث کوتاه شدن طول تلومر می‌شود [۳۹]. ژن CLK2 برای تکوین جنین به‌خصوص برای بلوغ تخمک از مرحلهٔ دوسلولی به چهارسلولی، در مرحلهٔ پس از جنینی و تولیدمثل ضروری می‌باشد و این ژن کدکنندهٔ پروتئین TEL_2P به‌شمار می‌آید که توسط ژن TEL_2 کدگذاری می‌شود. این ژن در مخمر نقش تنظیم طول تلومر را برعهده دارد. همچنین مشاهده شده که این ژن در تمام سلول‌ها مشابه با نقش CKL_2 در c- الگانس است [۹]. بنابراین تنوع ژنتیکی در ژن تلومراز اثر بسیاری در طول تلومر دارد. تغییرات در تلومراز طول تلومر را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۶۷]. استرس اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین فاکتورها در کوتاه‌شدگی طول تلومر است که نتایج آن باعث آسیب DNA می‌شود [۶۸]. از طریق نور فرابنفش همچنین نشان داده شده که استرس اکسیداتیو باعث آسیب اولیگونوکلئوتیدها در تلومر درون بدن می‌شود [۶۹ـ۷۱]. درواقع تلومرها توالی‌های غنی از باز گوانین هستند و نواحی تلومری DNA بیشتر از نواحی غیرتلومری آن مستعد آسیب هستند. نقص در ساختار تلومر می‌تواند انتهای کروموزوم را بیشتر در دسترس استرس‌های اکیسداتیو که به‌طور طبیعی در طی بلوغ اسپرم تولید می‌شود، قرار دهد. بنابراین استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث القای شکستگی DNA شود [۳۹]. می‌توان چنین استنباط کرد که در معرض قرار گرفتن طولانی‌مدت دربرابر استرس اکسیداتیو باعث کاهش فعالیت آنزیم تلومراز و کاهش طول تلومر می‌شود [۴۸]. علاوه‌بر این، استرس اکسیداتیو می‌تواند آپاپتوز سلولی را القا کند. محققان بر این باورند که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولیدشده از میتوکندری باعث آپاپتوز و مرگ سلول می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که آپپتوز و مرگ سلولی در تمام سلول‌ها اتفاق می‌افتد. آپاپتوز در سلول‌های سوماتیک از طریق آنزیم اندونوکلئاز که درواقع در سیتوپلاسم میتوکندری است، صورت می‌گیرد. لذا اندونوکلئاز بر هستهٔ سلول‌ها اثر گذاشته، باعث تکه‌تکه شدن DNA و مرگ سلول‌ها می‌شود. اما در سلول‌های زایا، به بیان روشن، می‌توان گفت که ROS تولیدشده در میتوکندری هستهٔ سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باعث شکسته شدن DNA و نهایتاً آپاپتوز سلول‌های زایا و سوماتیک می‌شود. اما در اسپرم، میتوکندری در قسمت میانی قرار دارد؛ لذا آنزیم اندونوکلئاز نمی‌تواند بر هستهٔ اسپرم تأثیر بگذارد. هنگامی که استرس اکسیداتیو اولیه از طریق میتوکندری اسپرم تولید می‌شود، باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و ایجاد آلدهیدهای چربی می‌گردد که به زنجیرهٔ انتقال الکترون واقع در میتوکندری

متصل می‌شود و سپس این عامل باعث تحریک تولید استرس اکسیداتیو می‌گردد. درصورت پایین بودن ROS در هنگام لقاح، تخمک می‌تواند از طریق سیستم ترمیمی خود آن را ترمیم کند [۷۲]. مطالعات دربارهٔ طول تلومر نشان می‌دهد مکانیسم‌های پیری و آپاپتوز با افزایش سن باعث کوتاهی طول تلومر می‌شود. عوامل شیوهٔ زندگی نیز طول تلومر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گزارش شده است که استرس شدید در دوران کودکی و ورزش هوازی می‌تواند کوتاهی طول تلومر را تسریع بخشد. با افزایش سن، طول تلومر در چند اندام، ازجمله، کلیه، کبد، پانکراس و ریه‌ها، کوتاه می‌شود. اختلال در تنظیم طول تلومر ممکن است تعدادی از بیماری‌ها، مانند پیری زودرس هاچینسون ـ گیلفرد (یک جهش هتروزیگوت در پیرایش ژن که کدکنندهٔ پروتئین C است) و سندروم ورنر بلوم را شامل می‌شود. اثر سن بر طول تلومر بین زن و مرد متفاوت است. به‌طور کلی طول تلومر زنان با توجه به اینکه سطح بالای استروژن، یک گیرندهٔ تنظیمی مثبت برای بیان تلومراز است، بیش از مردان هم‌سن‌وسال خود است. عوامل محیطی، ازجمله فست فود، سیگار کشیدن، چاقی، استرس روانی، ورزش شدید، وضعیت اجتماعی و اقتصادی ضعیف، قرار گرفتن در معرض حشره‌کش‌ها، آفت‌کش‌ها، آلاینده‌های زیست‌محیطی، درجه حرارت بالا و تابش الکترومغناطیسی ممکن است بر طول تلومر تأثیر بگذارد و منجر به کاهش آن گردد. رابطهٔ مستقیمی بین مصرف دخانیات و طول تلومر وجود دارد؛ به‌طوری که سیگار کشیدن باعث فعال‌سازی لوکوسیت، التهاب و درنهایت تولید ROS می‌شود؛ لذا کشیدن سیگار باعث التهاب در بیضه و تولید استرس اکسیداتو می‌گردد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات دربارهٔ نقش طول تلومر در تولیدمثل بسیار محدود است؛ با این حال، عوامل مختلفی مانند استرس اکسیداتیو بر فنوتیپ تلومر اثر گذاشته و موجب القا شدن مکانیسم DDR و کوتاه‌شدگی طول تلومر می‌شود. اعتقاد بر این است که شاید طول تلومر یکی از فاکتورهای کلیدی درگیر در باروری و طول عمر (در سطح سلول) باشد. اگرچه مشخص شده طول تلومر از لحاظ ژنتیکی براساس سن پدر است، تحت تأثیر فاکتورهای محیطی داخلی و خارجی نیز قرار دارد. در زمینهٔ ساختار طول تلومر نیاز به مطالعات بیشتری در زمینهٔ طول تلومر سلول‌های زایا و باروری است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از کارکنان محترم پژوهشکدهٔ زیست‌فناوری و مسئولان گرامی پژوهشگاه رویان ابراز می‌کنند.

References

[1]. H. J. Muller Mutations: Induced Mutations in Drosophila Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1941; 9: 151-67.
[2]. Phatak P, Burger AM. Telomerase and its potential for therapeutic intervention. British journal of pharmacology 2007 Dec 1; 152(7): 1003-11.
[3]. Samassekou O, Gadji M, Drouin R, Yan J. Sizing the ends: normal length of human telomeres. Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger 2010 Sep 20; 192(5): 284-91.
[4]. Gineitis AA, Zalenskaya IA, Yau PM, Bradbury EM, Zalensky AO. Human sperm telomere-binding complex involves histone H2B and secures telomere membrane attachment. The Journal of cell biology 2000 Dec 25; 151(7): 1591-8.
[5]. Longhese MP, Anbalagan S, Martina M, Bonetti D. The role of shelterin in maintaining telomere integrity. Front Biosci 2012 Jan 1; 17: 1715-28.
[6]. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. Experimental cell research 1965 Mar 1; 37(3): 614-36.
[7]. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. Physiological reviews 2008 Apr 1; 88(2): 557-79.
[8]. Martens UM, Brass V, Sedlacek L, Pantic M, Exner C, Guo Y et al. Lansdorp PM, Waller CF, Lange W. Telomere maintenance in human B lymphocytes. British journal of haematology 2002 Dec 1; 119(3): 810-8.
[9]. Pickett HA, Reddel RR. Molecular mechanisms of activity and derepression of alternative lengthening of telomeres. Nature structural & molecular biology 2015 Nov 1; 22(11): 875-80.
[10]. Thilagavathi J, Venkatesh S, Dada R. Telomere length in reproduction. Andrologia 2013 Oct 1; 45(5): 289-304.
[11]. Sfeir A, de Lange T. Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. Science 2012 May 4; 336(6081): 593-7.
[12]. Karlseder J, Kachatrian L, Takai H, Mercer K, Hingorani S, Jacks T et al. Targeted deletion reveals an essential function for the telomere length regulator Trf1. Molecular and cellular biology 2003 Sep 15; 23(18): 6533-41.
[13]. Chiang YJ, Hemann MT, Hathcock KS, Tessarollo L, Feigenbaum L, Hahn WC et al. Expression of telomerase RNA template, but not telomerase reverse transcriptase, is limiting for telomere length maintenance in vivo. Molecular and cellular biology 2004 Aug 15; 24(16): 7024-31.
[14]. Zalensky AO, Tomilin NV, Zalenskaya IA, Teplitz RL, Bradbury EM. Telomere-telomere interactions and candidate telomere binding protein (s) in mammalian sperm cells. Experimental cell research 1997 Apr 10; 232(1): 29-41.
[15]. de Lange T. How telomeres solve the end-protection problem. Science 2009 Nov 13; 326(5955): 948-52.
[16]. Orr-Weaver TL, Szostak JW, Rothstein RJ. Yeast transformation: a model system for the study of recombination. Proceedings of the National Academy of Sciences 1981 Oct 1; 78(10): 6354-58.
[17]. Celli GB, de Lange T. DNA processing is not required for ATM-mediated telomere damage response after TRF2 deletion. Nature cell biology 2005 Jul 1; 7(7): 712-18.
[18]. di Fagagna FD, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, von Zglinicki T et al. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. Nature 2003 Nov 13; 426(6963): 194-98.
[19]. Guo X, Deng Y, Lin Y, Cosme-Blanco W, Chan S, He H et al. Dysfunctional telomeres activate an ATM-ATR-

dependent DNA damage response to suppress tumorigenesis. The EMBO journal 2007 Nov 14; 26(22): 4709-19.
[20]. Achi MV, Ravindranath N, Dym M. Telomere length in male germ cells is inversely correlated with telomerase activity. Biology of reproduction 2000 Aug 1; 63(2): 591-98.
[21]. Tomaska L, Nosek J, Kramara J, Griffith JD. Telomeric circles: universal players in telomere maintenance?. Nature structural & molecular biology 2009 Oct 1; 16(10): 1010-5.
[22]. Henson JD, Cao Y, Huschtscha LI, Chang AC, Au AY, Pickett HA et al. DNA C-circles are specific and quantifiable markers of alternative-lengthening-of-telomeres activity. Nature biotechnology 2009 Dec 1; 27(12): 1181-85.
[23]. Bechter OE, Zou Y, Walker W, Wright WE, Shay JW. Telomeric recombination in mismatch repair deficient human colon cancer cells after telomerase inhibition. Cancer research 2004 May 15; 64(10): 3444-51.
[24]. Bechter OE, Shay JW, Wright WE. The frequency of homologous recombination in human ALT cells. Cell Cycle 2004 May 1; 3(5): 545-47.
[25]. Nabetani A, Ishikawa F. Unusual telomeric DNAs in human telomerase-negative immortalized cells. Molecular and cellular biology 2009 Feb 1; 29(3): 703-13.
[26]. Cesare AJ, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. Nature reviews genetics 2010 May 1; 11(5): 319-30.
[27]. Dunham MA, Neumann AA, Fasching CL, Reddel RR. Telomere maintenance by recombination in human cells. Nature genetics 2000 Dec 1; 26(4): 447-50.
[28]. Henson JD, Neumann AA, Yeager TR, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres in mammalian cells. oncogene 2002 Jan 21; 21(4): 598-610.
[29]. Sharma R, Agarwal A. Spermatogenesis: an overview. InSperm Chromatin 2011 (pp. 19-44). Springer New York.
[30]. Goetz P, Chandley AC, Speed RM. Morphological and temporal sequence of meiotic prophase development at puberty in the male mouse. Journal of Cell Science 1984 Jan 1; 65(1): 249-63.
[31]. Yang F, De La Fuente R, Leu NA, Baumann C, McLaughlin KJ, Wang PJ. Mouse SYCP2 is required for synaptonemal complex assembly and chromosomal synapsis during male meiosis. The Journal of Cell Biology 2006 May 22; 173(4): 497-507.
[32]. Luderus ME, Van Steensel B, Chong L, Sibon OC, Cremers FF, De Lange T. Structure, subnuclear distribution, and nuclear matrix association of the mammalian telomeric complex. The Journal of cell biology 1996 Nov 15; 135(4): 867-81.
[33]. Fruleux A1, Hawkins RJ. Physical role for the nucleus in cell migration. J Phys Condens Matter 2016 Sep 14; 28(36): 363002.
[34]. Deng Z1, Wang Z, Xiang C, Molczan A, Baubet V, Conejo-Garcia J et al. Formation of telomeric repeat-containing RNA (TERRA) foci in highly proliferating mouse cerebellar neuronal progenitors and medulloblastoma. J Cell Sci 2012 Sep 15; 125(18): 4383-94
[35]. Reig-Viader R, Garcia-Caldés M, Ruiz-Herrera A. Telomere homeostasis in mammalian germ cells: a review. Chromosoma 2016 Jun 1; 125(2): 337-51.
[36]. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mozdarani H, Mardani M, Azvagi H. Relationship between protamine deficiency with fertilization rate and incidence of sperm premature chromosomal condensation post-ICSI. Andrologia 2004 Jun 1; 36(3): 95-100.
[37]. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mardani M, Shirazi R, Javanmardi S. Effects of failed oocyte activation and sperm protamine deficiency on fertilization post-ICSI. Reproductive biomedicine online 2007 Jan 1; 14(4): 422-29.
[38]. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Tavalaee M. Failed fertilization after ICSI and spermiogenic defects. Fertility and sterility 2008 Apr 30; 89(4): 892-98.
[39]. Thilagavathi J, Mishra SS, Kumar M, Vemprala K, Deka D, Dhadwal V et al. Analysis of telomere length in couples experiencing idiopathic recurrent pregnancy loss. Journal of assisted reproduction and genetics 2013 Jun 1; 30(6): 793-98.
[40]. Rocca MS, Speltra E, Menegazzo M, Garolla A, Foresta C, Ferlin A. Sperm telomere length as a parameter of sperm quality in normozoospermic men. Human Reproduction 2016 Jun 1; 31(6): 1158-63.
[41]. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. Science 1994 Dec 23: 2011-15.
[42]. Keefe DL, Franco S, Liu L, Trimarchi J, Cao B, Weitzen S et al. Telomere length predicts embryo fragmentation after in vitro fertilization in women-toward a telomere theory of reproductive aging in women. American journal of obstetrics and gynecology 2005 Apr 30; 192(4): 1256-60.
[43]. Barlow AL, Hultén MA. Combined immunocytogenetic and molecular cytogenetic analysis of meiosis I human spermatocytes. Chromosome Research 1996 Dec 25; 4(8): 562-73.
[44]. Moskovtsev SI, Willis J, White J, Mullen JB. Disruption of telomere–telomere interactions associated with DNA damage in human spermatozoa. Systems biology in reproductive medicine 2010 Dec 1; 56(6): 407-12.
[45]. Jørgensen PB, Fedder J, Koelvraa S, Graakjaer J. Age-dependence of relative telomere length profiles during spermatogenesis in man. Maturitas 2013 Aug 31; 75(4): 380-85.
[46]. Yang Q, Zhao F, Dai S, Zhang N, Zhao W, Bai R et al. Sperm telomere length is positively associated with the quality of early embryonic development. Human reproduction 2015 Jun 16; 30(8): 1876-81.
[47]. Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. American journal of human genetics 1994 Nov; 55(5): 876.
[48]. [48] Liu L, Trimarchi JR, Smith PJ, Keefe DL. Mitochondrial dysfunction leads to telomere attrition and genomic instability. Aging cell 2002 Oct 1; 1(1): 40-46.
[49]. Treff NR, Su J, Taylor D, Scott Jr RT. Telomere DNA deficiency is associated with development of human embryonic aneuploidy. PLoS genetics 2011 Jun 30; 7(6): e1002161.
[50]. Tahamtan S, Tavalaee M, Izadi T, Barikrow N, Zakeri Z, Lockshin RA et al. Reduced sperm telomere length in individuals with varicocele is associated with reduced genomic integrity. Science Report. 2019 Mar 13; 9(1): 4336.
[51]. Darmishonnejad Z, Tavalaee M, Izadi T, Tanhaei S, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of sperm telomere length in infertile men with failed/low fertilization after intracytoplasmic sperm injection. Reprod Biomed Online. 2019 Apr; 38(4): 579-87.
[52]. Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. Asian journal of andrology 2015 Jul; 17(4): 659.
[53]. Nasr-Esfahani MH, Tavalaee M. Origin and role of DNA damage in varicocele. International journal of fertility & sterility 2012 Oct; 6(3): 141.
[54]. Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, Skurnick J et al. Telomere length as an indicator of biological aging. Hypertension 2001 Feb 1; 37(2): 381-85.
[55]. Schaetzlein S, Lucas-Hahn A, Lemme E, Kues WA, Dorsch M, Manns MP et al. Telomere length is reset during early mammalian embryogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2004 May 25; 101(21): 8034-38.
[56]. Liu L, Bailey SM, Okuka M, Muñoz P, Li C, Zhou L et al. Telomere lengthening early in development. Nature cell biology 2007 Dec 1; 9(12): 1436-41.
[57]. Turner S, Wong HP, Rai J, Hartshorne GM. Telomere lengths in human oocytes, cleavage stage embryos and blastocysts. Molecular human reproduction 2010 Jun 23; 16(9): 685-94.
[58]. Kumar M, Pathak D, Kriplani A, Ammini AC, Talwar P, Dada R. Nucleotide variations in mitochondrial DNA and supra-physiological ROS levels in cytogenetically normal cases of premature ovarian insufficiency. Archives of gynecology and obstetrics 2010 Dec 1; 282(6): 695-705.

[59]. Butts S, Riethman H, Ratcliffe S, Shaunik A, Coutifaris C, Barnhart K. Correlation of telomere length and telomerase activity with occult ovarian insufficiency. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2009 Dec 1; 94(12): 4835-43.
[60]. Ruiz-Larrea MB, Leal AM, Martin C, Martinez R, Lacort M. Antioxidant action of estrogens in rat hepatocytes. Revista española de Fisiología 1997 Jun; 53(2): 225-29.
[61]. Viña J, Borrás C, Gambini J, Sastre J, Pallardó FV. Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds. FEBS letters 2005 May 9; 579(12): 2541-45.
[62]. Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. Developmental genetics 1996 Jan 1; 18(2): 173-79.
[63]. Meerdo LN, Reed WA, White KL. Telomere-to-centromere ratio of bovine clones, embryos, gametes, fetal cells, and adult cells. Cloning and stem cells 2005 Mar 1; 7(1): 62-73.
[64]. Tanemura K, Ogura A, Cheong C, Gotoh H, Matsumoto K, Sato E et al. Dynamic rearrangement of telomeres during spermatogenesis in mice. Developmental biology 2005 May 15; 281(2): 196-207.
[65]. Heidinger BJ, Blount JD, Boner W, Griffiths K, Metcalfe NB, Monaghan P. Telomere length in early life predicts lifespan. Proceedings of the National Academy of Sciences 2012 Jan 31; 109(5): 1743-48.
[66]. Hanna CW, Bretherick KL, Gair JL, Fluker MR, Stephenson MD, Robinson WP. Telomere length and reproductive aging. Human Reproduction 2009 Feb 6; 24(5): 1206-11.
[67]. Bénard C, McCright B, Zhang Y, Felkai S, Lakowski B, Hekimi S. The C. elegans maternal-effect gene clk-2 is essential for embryonic development, encodes a protein homologous to yeast Tel2p and affects telomere length. Development 2001 Oct 15; 128(20): 4045-55.
[68]. Jiang N, Bénard CY, Kébir H, Shoubridge EA, Hekimi S. Human CLK2 links cell cycle progression, apoptosis, and telomere length regulation. Journal of Biological Chemistry 2003 Jun 13; 278(24): 21678-84.
[69]. Kawanishi S, Oikawa S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress. Annals of the New York Academy of Sciences 2004 Jun 1; 1019(1): 278-84.
[70]. Henle ES, Han Z, Tang N, Rai P, Luo Y, Linn S. Sequence-specific DNA cleavage by Fe2+-mediated fenton reactions has possible biological implications. Journal of Biological Chemistry 1999 Jan 8; 274(2): 962-71.
[71]. Longhese MP. DNA damage response at functional and dysfunctional telomeres. Genes & development 2008 Jan 15; 22(2): 125-40.
[72]. Keefe DL, Marquard K, Liu L. The telomere theory of reproductive senescence in women. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology 2006 Jun 1; 18(3): 280-85.

The Role of Telomer in Reproduction

Tavalaee M[1], Dormishoun- nejad Z[2], Izadi T[3], Nasr-Esfahani MH[4, 5*]

1. Asistant Prof, Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
2. MSc, Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
3. B.Sc, Department of Cellular Biotechnology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
4. Prof, Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
5. Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran

Abstract

Background Telomeres as noncoding hetrochromatic and protective structures contain hexa-nucleutid repeats with rich in guanine at the end of each chromosomes. These structures are conserved during evolution, and their function depends on their length. In somatic cells, telomeres length decreases by each cell division. Shortening of telomere length lead to cell cycle arrest, chromosomes anomalies and cell death. While, telomere length does not short in germ cells and cancer cell due to high activity of telomerase enzyme. Other factors that influenced the telomere length are:1. parental age at child's birth, 2. gender, 3. family history of cancer, 4. syndromes, 5. smoking, 6. X-radiation, 7. psychological stress, 8. alcohol consumption and 9. improper eating habits. Therefore, we aimed in this review, to discuss the role of telomere length in male germ cells..

Materials & Methods For this review, all relevant information were collected via databases including PubMed and Google Scholar during the period 1965-2016.

Results Normal size of the sperm telomere can be considered as an indicator of semen quality, ability to fertilize and result in formation of good quality embryo and pregnancy.

Conclusion Examination of telomeric structure especially telomere length could provide a new insight for our understanding of the etiology of human infertility.

Received: 2018/05/14
Accepted: 2018/07/22

Keywords: Telomeres, Telomerase, sperm, ovulation, fertilization, fertility.