

بررسی ویژگی‌ها و عملکرد گیرنده‌های هسته‌ای فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسیزوم‌ها (PPARs) در باروری مردان

مطهره سادات موسوی^۱، عبدالحسین شاهوردی^۲، محسن شرفی^۳، پگاه رحیمی‌زاده^۱، علیرضا علیزاده^{۴*}

مقاله مروری

چکیده

ناباروری، یکی از مشکلات شایع جهان امروز است. آمارها نشان می‌دهد که ۲۰/۲ درصد از زوج‌های ایرانی نابارورند که این میزان، بیشتر از میانگین جهانی (۱۵-۱۲ درصد) است و گزارش‌ها حاکی از آن است که ۷۰ درصد از این ناباروری‌ها منشأ مردانه دارند. امروزه، رویکردهای جدیدی برای تشخیص دلایل ناباروری مردان ارائه می‌شود که یکی از آن‌ها، بررسی گیرنده‌های هسته‌ای است. گیرنده‌های فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسیزوم‌ها (Peroxisome proliferator-activated receptors یا PPARs)، گروهی از گیرنده‌های هسته‌ای وابسته به لیگاند هستند که در تنظیم هموستازی انرژی و متابولیسم لیپید و گلوکز نقش دارند. اگر چه، مطالعات بسیاری نقش PPARs را در متابولیسم و باروری زنان تأیید کرده‌اند، اما مطالعات کمتری به نقش این گیرنده‌ها در باروری مردان پرداخته‌اند. در این مقاله، ابتدا به تبیین نقش PPARs در بافت‌های تولید مثلی پرداخته شده است. سپس، مطالعاتی که تا کنون نقش این گیرنده‌ها و لیگاندهایشان را در بافت‌های تولید مثلی مردان بررسی کرده‌اند، تشریح شده‌اند. از آن جایی که متابولیسم اسپرم و تولید انرژی لازم برای حرکت آن، نقش مهمی در باروری مردان دارد، در ادامه، تأثیر تنظیم بیان این گیرنده‌ها به ویژه ایزوتایپ PPAR γ در اسپرماتوژنز و حرکت اسپرم بررسی شده است. به نظر می‌رسد مطالعه‌ی این گیرنده‌ها و بررسی نقش آن‌ها در متابولیسم اسپرم، بتواند افق‌های تحقیقاتی جدیدی پیرامون نقش این گیرنده‌ها و تعاملات آن‌ها با سایر گیرنده‌های هسته‌ای، در ناباروری مردان به خصوص ناباروری‌های ناشی از بیماری‌های متابولیک نظیر چاقی و دیابت را فراهم کند.

واژگان کلیدی: اسپرم؛ Peroxisome proliferator-activated receptors؛ متابولیسم؛ ناباروری مردان، تولید مثل

ارجاع: موسوی مطهره سادات، شاهوردی عبدالحسین، شرفی محسن، رحیمی‌زاده پگاه، علیزاده علیرضا. بررسی ویژگی‌ها و عملکرد گیرنده‌های هسته‌ای فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسیزوم‌ها (PPARs) در باروری مردان. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۸۳): ۱۱-۵۰۳.

مقدمه

که ۷۰ درصد از این ناباروری‌ها منشأ مردانه دارند (۳). دلایل متعددی نظیر تولید آنتی‌بادی ضد اسپرم، نقص در انتقال اسپرم، انسداد لوله‌های اسپرم‌بر و غیره در امر ناباروری دخالت دارند که در میان این عوامل، ۹۰-۴۰ درصد از موارد ناباروری مردان، مربوط به نقص در اسپرماتوژنز است. مایع منی مردان دارای این نقص، ویژگی‌های منی غیر طبیعی دارند که به گروه‌های آروسپرمیا، الیگوزوسپرمیا، تراتوزوسپرمیا و آستنوزوسپرمیا طبقه‌بندی می‌شوند (۴).

عوامل ژنتیکی درگیر در ناباروری مردان به صورت اختلالات کروموزومی، اختلالات تک ژنی، اختلالات چند عاملی، جهش در DNA میتوکندری و اختلالات غدد درون‌ریز با منشأ ژنتیکی، ظاهر

اگر چه در سال‌های اخیر پیشرفت‌های بسیاری در علوم پزشکی به ویژه در شاخه‌ی علوم تولید مثل حاصل شده است، اما همچنان ناباروری یکی از نگرانی‌های اصلی زوج‌های جوان است. ناباروری، یک مسأله‌ی چند عاملی است که عوامل مختلف ژنتیکی، محیطی و آناتومیک در آن دخیل هستند. مطالعات نشان می‌دهند که ۵۰ درصد از ناباروری‌ها، ناشی از نقایص مردانه است (۲-۱). ناباروری در ایران نیز یک موضوع جدی است. آمارها نشان می‌دهد که حدود ۲۰/۲ درصد از زوج‌های ایرانی، نابارورند که این میزان، بیشتر از میانگین جهانی (۱۵-۱۲ درصد) است. گزارش‌ها، حاکی از آن است

- ۱- گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، تهران، ایران
 - ۲- استاد، گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی و گروه اپیدمیولوژی و سلامت باروری، مرکز تحقیقات اپیدمیولوژی باروری، تهران، ایران
 - ۳- استادیار، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
 - ۴- استادیار، گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، تهران، ایران
- نویسنده‌ی مسؤول: علیرضا علیزاده؛ استادیار، گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، تهران، ایران

Email: alizadehmasouleh@royaninstitute.org

از سوی دیگر، مطالعات بسیاری ارتباط بین ناباروری و بیماری‌های متابولیک را به اثبات رسانده‌اند که در این میان، نقش محوری گیرنده‌های هسته‌ای به ویژه خانواده‌ی PPARs به طور کامل مشهود است. مطالعات نشان داده‌اند که PPAR γ (مهم‌ترین ایزوتایپ خانواده‌ی PPARs) نقش کلیدی در ارتباط بین متابولیسم لیپید و تولید مثل ایفا می‌کند. همچنین، نقش این گیرنده‌ها در لانه‌گزینی، تشکیل جفت، گسترش غدد شیری، تکامل جنین و بلوغ جنسی به اثبات رسیده است (۱۱). مطالعات ژنتیکی نشان می‌دهد که PPAR γ با بسیاری از ژن‌هایی که بر فعالیت انسولین تأثیرگذارند، در ارتباط است. به ویژه، این گیرنده بر ژن‌هایی تأثیرگذار است که در انتقال اسیدهای چرب، تشکیل ذرات لیپید، سنتز و شکست تری‌آسیل گلیسرول نقش دارند.

به علاوه، فعالیت PPAR γ سبب افزایش حساسیت به انسولین می‌شود که این امر می‌تواند در کنترل مستقیم برخی ژن‌هایی باشد که در مسیر پیام‌رسانی انسولین فعال هستند (۱۲). داروی Thiazolidinedione (TZDs) (آگونست PPAR γ) تأثیر مستقیم بر متابولیسم لیپیدها در بافت چربی و تأثیر غیر مستقیم بر متابولیسم گلوکز در کبد و ماهیچه‌ی اسکلتی دارند. TZDها نه تنها متابولیسم گلوکز را در بیماران مبتلا به دیابت افزایش می‌دهند؛ بلکه در افراد چاق و افراد با نقص در تحمل گلوکز نیز مؤثر هستند. همچنین، فعال شدن PPAR γ با TZDs سبب کاهش HbA1C (Glycated hemoglobin) - نشانگری برای شناسایی میزان گلوکز پلازما در طول زمان که در موارد مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ افزایش می‌یابد- قند خون ناشتا، قند پس از صرف غذا و مقادیر انسولین در گردش در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌شود و همین امر، سبب بهبود حساسیت به انسولین می‌گردد (۱۳). به نظر می‌رسد اهمیت گیرنده‌های PPARs بیش از سایر گیرنده‌های هسته‌ای مطرح است. از این رو، هدف از انجام این مطالعه، بررسی و تبیین نقش PPARs و آگونست‌های آن در باروری جنس نر است.

خانواده‌ی PPARs

گیرنده‌های فعال کننده‌ی تکثیر پراکسیزوم‌ها (PPARs)، گروهی از گیرنده‌های هسته‌ای هستند و برای نخستین بار در سال ۱۹۹۰، از سلول‌های کبد موش تخلیص شدند. این گیرنده‌های هسته‌ای، وابسته به لیگاند هستند و در ابتدا، به عنوان واسطه‌هایی برای تحریک تکثیر پروکسیزوم در کبد جوانگان شناسایی شدند که به همین دلیل، این نام برای آن‌ها انتخاب شد. اما در ادامه‌ی مطالعات، مشخص شد که PPARها بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی شامل بالانس انرژی، متابولیسم لیپید و گلوکز، التهاب، تکثیر و تمایز، تولید مثل، التیام زخم

می‌شود (۶-۵). سلول اسپرم برای حرکت، حفظ ساختار و عملکرد خود در طول بلوغ، لانه‌گزینی و واکنش آکروزومی، نیاز به انرژی دارد که این انرژی را از Adenosine triphosphate (ATP) درون سلولی که از اکسیداسیون سوسترهایی نظیر فروکتوز، گلوکز، سوربیتول، لاکتات یا پرووات فراهم می‌شود، کسب می‌کند. سلول اسپرمی که توانایی یا منابع انرژی لازم برای حرکت را نداشته باشد، نمی‌تواند با تخمک لقاح داشته باشد. در همین راستا و با توجه به شیوع بیشتر اختلالات در تحرک اسپرم، توجه ویژه‌ای به این موضوع معطوف شده است. تاکنون دو مسیر متابولیکی شامل گلیکولیز و فسفریلاسیون اکسیداتیو برای تولید انرژی حرکتی در اسپرم شناخته شده است. اسپرم پستانداران طوری تنظیم شده است که حتی در برابر غلظت بسیار کم گلوکز محیط هم واکنش متابولیکی بسیار سریع و عمیقی می‌دهد و از آن، در جهت تولید ATP استفاده می‌کند. بنابراین، اسپرم یکی از کاراترین سلول‌ها از نظر متابولیکی در میان سایر سلول‌های پستانداران است (۷). مطالعات متعدد نشان داده است که گیرنده‌های اسیدهای چرب، نقش مهمی در تنظیم متابولیسم تمام سلول‌ها به ویژه سلول‌های تولید مثلی دارند.

گیرنده‌های اسیدهای چرب در غدد جنسی (تخمندان‌ها یا بیضه‌ها) شناسایی شده‌اند، اما بیان آن‌ها در سلول‌های جنسی هنوز به طور شفاف شناخته نشده است. شناخته‌شده‌ترین گیرنده‌های هسته‌ای شامل Retinoid X receptor (RXR)، Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)، Liver X receptor (LXR)، Small heterodimer partner (SHP) Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) است. مطالعه بر روی این گیرنده‌ها، نشان داده است که این گیرنده‌ها با تغییر استروئیدورژن یا چرخه‌ی سلولی در عملکرد تولید مثل هر دو جنس دخیل هستند (۹-۸).

امروزه، شیوع ناباروری در مردانی که در ظاهر سالم هستند و آزمایش‌های بالینی آن‌ها طبیعی بودن متغیرهای اسپرمی را نشان می‌دهند، دیده می‌شود که در اصطلاح به این موارد، ناباروری با علل ناشناخته می‌گویند. با افزایش شیوع این دست ناباروری، لزوم بررسی‌های ژنتیکی و مولکولی برای شناخت صحیح علت یا علل ناباروری بیشتر از گذشته احساس می‌شود. مطالعات گسترده‌تر در زمینه‌ی گیرنده‌های هسته‌ای، می‌تواند اساس مولکولی اسپرماتورژن غیر طبیعی و در نتیجه، نقص در باروری مردان را روشن سازد. همچنین، با توجه به نقش اساسی گیرنده‌های هسته‌ای در متابولیسم و تأمین انرژی سلول اسپرم، این گیرنده‌ها می‌توانند گزینه‌ی مناسبی برای رویکردهای درمانی جدید، نظیر شناسایی و تشخیص ژن‌های مؤثر برای درمان ناباروری باشند (۱۰).

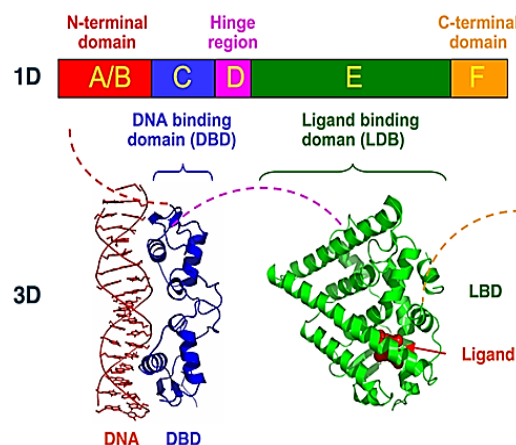
PPAR γ 3 و PPAR γ 4 در انسان شناسایی شده است که توسط دو پروموتور مختلف کد می‌شوند. به نظر می‌رسد بیان PPAR γ 4 منحصر به بافت چربی است؛ در حالی که PPAR γ 3 در بافت چربی سفید، روده‌ی بزرگ و ماکروفازها شناسایی شده است (۱۷).

PPAR γ رونویسی از ژن‌هایی را تسهیل می‌کند که در فرایندهای آنابولیک شامل ذخیره‌ی تری‌گلیسیریدها در بافت چربی مورد نیاز هستند (۱۴). به نظر می‌رسد که PPAR γ رابط بین متابولیسم انرژی و تولید مثل است و در ناباروری مردان چاق که مرتبط با مقاومت به انسولین است، نقش دارد (۱۸). PPAR α بیان پروتئین انتقال دهنده‌ی اسید چرب PPAR γ ، بیان پروتئین انتقال دهنده‌ی اسید چرب (Fatty acid transport protein یا FATP) و آسیل کوآسیتتاز (Acetyl-CoA synthetase یا ACS) را تنظیم می‌کند. ACS نقش کلیدی در انتقال اسیدهای چرب به داخل سلول دارند. می‌توان استنباط کرد PPAR γ به عنوان حسگر سوخت در سیستم تولید مثل برای آگاهی دادن وضعیت انرژی سلول‌ها عمل می‌کند و به در نقش اتصال دهنده‌ی بین متابولیسم انرژی و تولید مثل عمل می‌کند (۱۸). این گیرنده‌های هسته‌ای برای تنظیم فعالیت خود به لیگاندهای اختصاصی نیاز دارند و پاسخ گیرنده به لیگاند، به نوع لیگاند بستگی دارد. دو نوع لیگاند شناخته شده است؛ لیگاند آگونیست که با اتصال به گیرنده، بالاترین پاسخ بیولوژیک را در سلول ایجاد می‌کند و لیگاند آنتاگونیست که اتصالش به گیرنده پاسخی را در سلول به دنبال نخواهد داشت و به اصطلاح، سرکوب کننده‌ی گیرنده است (۱۹).

لیگاندهای PPAR γ

دامنه‌ی وسیعی از ترکیبات وجود دارند که به عنوان لیگاندهای PPAR γ شناخته شده‌اند. تا کنون حدود ۲۱۱ آگونیست برای PPAR γ گزارش شده است که شامل لیگاندهای طبیعی و مصنوعی هستند (۱۴). برخی از لیگاندهای مهم در ادامه معرفی می‌شوند. اسیدهای چرب موجود در رژیم غذایی و روغن‌های مختلف، اصلی‌ترین فعال‌کنندگان PPAR γ هستند. در این میان، اسیدهای چرب غیر اشباع (Polyunsaturated fatty acids یا PUFA) جایگاه ویژه‌ای دارند و با غلظت در حد میکرومولار، می‌توانند آن را فعال کنند. از دیگر لیگاندهای طبیعی PPAR γ پروستاگلاندین‌ها و لیگاندهای مشتق از آراشیدونیک اسید مثل 15-deoxy-D 12,14-prostaglandin J2 acid هستند (۲۰). همچنین، لیگاندهای مصنوعی نیز برای PPAR γ شناخته شده‌اند؛ مانند خانواده‌ی Pioglitazone و Rosiglitazone (TZD) Thiazolidinedione که از مهم‌ترین اعضای این خانواده هستند (۱۶).

سرطان را کنترل می‌کنند (۱۴). ساختار PPARها شبیه ساختار گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی است: N-ترمینال (دومین A/B) ناحیه‌ای است که مسؤول فعالیت‌های غیر وابسته به لیگاند است و دومین C، ناحیه‌ی متصل شونده به DNA (DNA-binding domain یا DBD) است. دومین D در تشکیل دایمر دخالت دارد و C-ترمینال (دومین E/F) شامل دومین متصل شونده به لیگاند (Ligand-binding domain یا LBD) است (شکل ۱) (۱۵).



شکل ۱. ساختار گیرنده‌های هسته‌ای PPARs. N-ترمینال (دومین A/B) ناحیه‌ای است که مسؤول فعالیت‌های غیر وابسته به لیگاند است، دومین C، ناحیه‌ی متصل شونده به DNA (DNA-binding domain یا DBD) است. دومین D در تشکیل دایمر دخالت دارد و C-ترمینال (دومین E/F) شامل دومین متصل شونده به لیگاند (Ligand-binding domain یا LBD) است (۱۵).

خانواده‌ی PPAR، شامل سه زیر گروه اصلی PPAR γ ، PPAR α و PPAR β/δ است که توسط سه ژن متفاوت کد می‌شود. پروتئین‌های PPAR γ به صورت دو ایزوفرم وجود دارد که از یک ژن با استفاده از دو پروموتور متفاوت به نام‌های PPAR γ 1، PPAR γ 2 کد می‌شوند. PPAR γ 2، از PPAR γ 1 مشتق می‌شود؛ با این تفاوت که یک زنجیره‌ی ۳۰ آمینو اسیدی در انتهای N-ترمینال که ناحیه‌ی اتصال به لیگاند است، اضافه‌تر دارد که به همین خاطر، فعالیت رونویسی بیشتری نسبت به PPAR γ 1 دارد. همچنین، این ایزوفرم‌ها، الگوی بیانی متفاوتی در بافت‌های مختلف دارند. PPAR γ 1، به میزان قابل توجهی در بافت چربی، روده‌ی بزرگ، سلول‌های خونی و به میزان کمتری در کلیه، کبد، عضلات، پانکراس و روده‌ی کوچک بیان می‌شود، اما بیان PPAR γ 2 محدود به بافت چربی سفید و قهوه‌ای است (۱۶). به تازگی، دو نوع زیر گروه دیگر PPAR γ شامل

FSH از طریق مسیر پیام‌رسانی پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (Mitogen-activated protein kinase یا MAPK) تنظیم می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که پیام‌رسانی PPAR γ در تنظیم هورمون‌های هیپوفیزی شرکت دارد (۲۱).

نقش فیزیولوژیکی گیرنده‌های PPARs در بافت‌های تولید مثلی هنوز به طور کامل شناخته نشده است، اما مطالعات نشان داده است که موش‌هایی که PPAR α در آن‌ها حذف شده است، قابلیت زنده ماندن و باروری طبیعی دارند، اما حذف PPAR β/δ به باروری لطمه می‌زند و در صورت حذف PPAR γ مرگ در دوران جنینی رخ می‌دهد (۲۲). بر خلاف این فنوتیپ‌های آشکار، مکانیسم‌های عمل این گیرنده‌ها در کنترل باروری هنوز به طور کامل شناخته نشده است و برای استفاده از آن‌ها، به منظور اهداف درمانی، نیاز به مطالعات گسترده‌تری است. نسل جدید مواد دارویی که هدفشان این گیرنده‌ها هستند، در مرحله‌ی آزمایش بالینی است. مطالعات بالینی در زمینه‌ی لیگاندهای مصنوعی PPAR γ و PPAR α مورد توجه هستند و این امکان وجود دارد که در آینده‌ی نزدیک، برای درمان ناباروری‌های مرتبط با بیماری‌های متابولیکی (مانند مقاومت به انسولین یا سندرم تخمدان پلی‌کیستیک)، مفید واقع شوند (۲۳). در این میان، به تازگی توجه محققین به نقش کلیدی PPARs در تولید مثل جنس نر معطوف شده است.

نقش PPARs در تولید مثل جنس نر

با توجه به اثرات مفید لیگاندهای PPAR γ در درمان دیابت نوع ۲، نقش PPAR γ در متابولیسم گلوکز شناسایی شده است. PPAR γ نقش بالقوه‌ای در افزایش انسولین در بافت‌های پیرامونی دارد؛ در نتیجه، حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد. مقاومت به انسولین، اثرات منفی در کیفیت و کمیت اسپرم دارد. همچنین، PPAR γ نقش کلیدی در تنظیم متابولیسم لیپید سلولی، وضعیت اکسایش و کاهش، تمایز اندام‌ها در بافت چربی و سایر اندام‌ها نظیر پروستات دارد. بنابراین، به نظر می‌رسد که PPAR γ در تنظیم عملکرد تولید مثل مردان با تنظیم متابولیسم و حرکت اسپرم نقش کلیدی دارد (۲۱). بر این اساس، نقش این گیرنده‌ها در بخش‌های مختلف سیستم تولید مثل جنس نر بررسی می‌شود.

نقش PPARs در بیضه

گیرنده‌های PPAR هم در سلول‌های سوماتیک و هم در سلول‌های جنسی بیان می‌شوند. PPAR α و PPAR β/δ به صورت گسترده در سلول‌های بینابینی، سلول‌های لیدینگ و سلول‌های لوله‌ای منی‌ساز (سرتولی و سلول‌های جنسی) بیان می‌شوند؛ در حالی که بیان

لیگاندهای PPAR γ اغلب در گیاهانی مانند چای، سویا، روغن پالم، زنجبیل و انگور که به عنوان منابع غذایی به کار می‌روند، شناخته شده‌اند. بنابراین، منطقی به نظر می‌رسد که می‌توان از این گیاهان به عنوان مکمل درمانی برای درمان بیماران سندرم متابولیک و دیابت نوع ۲ استفاده کرد تا با تنظیم بیان PPAR γ ، متابولیسم لیپید و گلوکز در این بیماران تنظیم گردد (۱۶). همچنین، به نظر می‌رسد که آگونیست‌های طبیعی PPAR می‌تواند برای درمان بیماری‌های مخصوص دوره‌ی بارداری مانند دیابت بارداری مورد استفاده قرار گیرد؛ البته این توصیه، نیازمند مطالعات بیشتر است (۲۰).

در سال‌های اخیر، مطالعات خانوادگی PPAR بر طیف گسترده‌ی لیگاندهای طبیعی و مصنوعی آن‌ها متمرکز شده است و در نتیجه، نقش تأثیرگذار این گیرنده‌ها در متابولیسم، سیستم ایمنی، سیستم تولیدمثل و انواع سرطان‌ها شناخته شده است. همچنین، تأثیر بالقوه‌ی آن‌ها به منظور استفاده در شیوه‌های نوین درمانی مورد توجه قرار گرفته است. در ادامه، به نقش مهم گیرنده‌های PPARs در تولید مثل مردان پرداخته خواهد شد.

نقش PPARs در بافت‌های تولید مثلی

از زمان شناسایی PPARs در سال ۱۹۹۰، عملکردهای فراوانی برای این گیرنده‌ها شناسایی شده است. علاوه بر افزایش حساسیت به انسولین، تنظیم حجم چربی بدن، تقسیم سلولی و تنظیم واکنش‌های التهابی، هر سه ایزوفرم PPAR در سیستم عصبی مرکزی که مرتبط با بافت‌های تولید مثلی است؛ شامل گنادها (تخمدان و بیضه)، رحم، پروستات، غدد پستانی و غده‌ی هیپوفیز بیان می‌شود (۱۸). همان‌طور که اشاره شد، PPAR γ به عنوان یکی از مهم‌ترین مولکول‌ها برای تنظیم هموستازی انرژی و تنظیم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی (Hypothalamic-Pituitary-Gonadal یا HPG) نقش ایفا می‌کند و به طور متقابل توسط HPG تنظیم می‌شود. در همین راستا، نشان داده شده است که در غده‌ی هیپوفیز موش با گذشت ۲۴ ساعت از محدودیت غذایی، بیان PPAR γ ، ۵۴ درصد کاهش می‌یابد. در هیپوتالاموس، PPAR γ ، بسیاری از مولکول‌های درگیر در هموستازی انرژی را تنظیم می‌کند. بنابراین، به نظر می‌رسد که پیچیدگی رابطه‌ی PPAR γ و عملکرد تولید مثلی از سیستم عصبی آغاز می‌شود و هنوز مشخص نیست که «آیا تأثیر PPAR γ بر عملکرد تولید مثل با این مسیر پیام‌رسانی تنظیم می‌شود یا خیر؟». خاموش کردن ژن PPAR γ در هیپوفیز، سبب افزایش مقادیر هورمون لوتینه‌کننده (Luteinizing hormone یا LH) در موش ماده و کاهش هورمون محرک فولیکولی (Follicle-stimulating hormone یا FSH) در موش نر می‌شود و این امر، سبب نقص در باروری موش‌ها می‌گردد. به علاوه، گزارش شده است که فعالیت‌های PPAR γ توسط

اسپری مو و عطرها یافت می‌شود. این مواد، ممکن است از طریق تغییر هورمون‌های دخیل در استروئیدوزن و اسپرماتوزن، سبب ناباروری شوند (۲۸). از این رو، امروزه نقش سبک زندگی مدرن و تأثیر این گیرنده‌ها بر متغیرهای باروری جنس نر بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است و مطالعات بسیاری در زمینه‌ی تأثیر آگونیست‌های PPARs، به ویژه PPAR γ انجام شده و مطالعاتی نیز در دست بررسی است (جدول ۱).

جدول ۱. بررسی اجمالی مطالعات پیرامون تأثیر آگونیست‌های Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR γ) بر سلول اسپرم

منبع	تایج مشاهده شده	نوع آگونیست	نوع گونه
Shimizu و همکاران (۳۴)	افزایش توانایی لقاح اسپرم	Prostaglandins	انسان
Aquila و همکاران (۲۹)	افزایش واکنش آکروزومی و تحرک اسپرم	PGJ2	انسان
Santoro و همکاران (۳۱)	تأثیر مثبت بر تحرک، واکنش آکروزومی، زنده‌مانی و متابولیسم اسپرم	PGJ2	خوک
Swegen و همکاران (۳۵)	افزایش حرکت سلول‌های اسپرم و حفظ تحرک سلول‌ها با انکوباسیون طولانی مدت	Rosiglitazone	اسب

نقش PPARs در اسپرم

گیرنده‌های هسته‌ای مختلفی نظیر گیرنده‌ی پروژسترون، گیرنده‌ی استروژن α و گیرنده‌ی استروژن β در اسپرم انزالی انسان شناسایی شده است که در ظاهر، از طریق مکانیسم‌های غیر ژنومی، فرایندهای سلولی را تنظیم می‌کنند. سلول اسپرم، برای تطبیق خود با شرایط دینامیک محیط پیرامونی، نیاز به فعال شدن سریع دارد که گیرنده‌های هسته‌ای این ویژگی را برای آن فراهم می‌کنند، اما تا کنون مکانیسم‌های اساسی و مسیرهای پیام‌رسانی که با تغییر در متابولیسم انرژی اسپرم مرتبط هستند، به طور کامل شناسایی نشده‌اند (۲۹-۳۰). برای نخستین بار، Aquila و همکاران بیان PPAR γ را در اسپرم انسان گزارش کردند. این محققین، با بررسی سه نمونه‌ی مایع منی طبیعی و با استفاده از تکنیک Real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) بیان PPAR γ را در سطح Messenger RNA (mRNA) به اثبات رساندند و با استفاده از تکنیک‌های Western-Blot و ایمونوسیتوشیمی، بیان این گیرنده‌ها را در سطح پروتئین نشان دادند. سال‌ها بعد، همین تیم تحقیقاتی، بیان PPAR γ را

PPAR γ محدود به سلول‌های سرتولی است. ثابت شده است که طی بلوغ، سلول‌های سرتولی نقش حیاتی در حمایت از اسپرماتوزن (تولید اسپرم‌های بالغ) ایفا می‌کنند تا جایی که بدون حمایت متابولیکی و فیزیکی سلول‌های سرتولی، تمایز سلول‌های جنسی، میوز و بلوغ اسپرم ممکن نیست (۲۴). از آن جایی که متابولیسم لیپیدها به خصوص بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب برای عملکرد بیضه (ستتر استروئیدها و الگوی اسیدهای چرب اسپرم) ضروری است، پیام‌رسانی PPAR γ می‌تواند الگوی بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم گلوکز و چربی‌ها در سلول‌های سرتولی را تنظیم کند (۲۵).

تنظیم متابولیسم سلول‌های سرتولی به منظور فراهم کردن مواد غذایی برای سلول‌های جنسی و همچنین، تأمین نیازهای خود این سلول‌ها، امری ضروری است. مهم‌ترین متابولیت انرژی‌زایی که توسط سلول‌های تولید کننده‌ی اسپرم استفاده می‌شود، لاکتات است که از گلوکز در سلول‌های سرتولی تولید می‌شود، اما سلول‌های سرتولی برای تأمین انرژی خود، تنها به گلوکز متکی نیستند و از اسیدهای چرب نیز به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند (۲۶). فعالیت PPAR γ و PPAR β ، بیان ژن‌های دخیل در کاتابولیسم اسیدهای چرب را تنظیم می‌کند. یافته‌ها حاکی از آن است که فعالیت PPAR α و PPAR β در تنظیم تولید لاکتات در سلول‌های سرتولی با هم متفاوت است. فعالیت PPAR β ، تولید لاکتات را افزایش می‌دهد، اما این مسئله، در مورد PPAR α صدق نمی‌کند (۲۷). مطالعات آینده بر روی این عوامل رونویسی ممکن است بتواند به درک نقش بیشتر این گیرنده‌ها در باروری جنس نر کمک کند.

نقش PPARs در اسپرماتوزن

اسپرماتوزن، دگرگونی موفق اسپرماتیدهای کناری به ساختار کامل اسپرماتوزوا (اسپرم بالغ) است. PPAR γ به عنوان تنظیم کننده‌ی مهم در چربی‌زایی است که در هر دو نوع سلول‌های سرتولی و سلول‌های جنسی تمایز یافته، بیان می‌شود. پیام‌رسانی PPAR γ نقش مهمی در اسپرماتوزن ایفا می‌کند. کمپلکس هتروداپیریک عوامل رونویسی PPAR γ /RXR γ ، رونوشت غالبی است که در سلول‌های سرتولی بیان می‌شود و بیان ژن‌های متابولیک لیپید را تنظیم می‌کند و انرژی لازم برای اسپرماتوزن توسط سلول‌های سرتولی را فراهم می‌کند. در صورتی که وقفه‌ای در اسپرماتوزن ایجاد شود، ناباروری رخ می‌دهد. به علاوه، خطر ناباروری مردان به دلیل غیر فعال شدن ژن‌های دخیل در متابولیسم لیپیدها، همیشه وجود دارد؛ از این رو، PPAR γ با فراهم کردن انرژی لازم برای اسپرماتوزن در باروری نقش محوری ایفا می‌کند (۲۱). همچنین، مطالعات نشان می‌دهد که لیگاندهای مصنوعی PPARs در علف‌کش‌ها، پلاستیک‌های صنعتی و محصولات نظیر

پتوز- فسفات موجود در آنها سیستم پیچیده‌ای را برای تنظیم مناسب مقادیر انرژی متناسب با موقعیت عملکردی آنها فراهم می‌کند. حال با وجود این پیچیدگی‌ها و قدرت تطابق بالا در اسپرم، نقش گیرنده‌های هسته‌ای PPARs کلیدی به نظر می‌رسد. مطالعات نشان می‌دهد که بیان PPAR α با FSH که هورمونی کلیدی برای تحریک تولید ترکیبات مایع بیضه‌ای، سنتز پروتئین و جذب منابع انرژی است، تنظیم می‌شود. همچنین، PPAR α ممکن است نقش فیزیولوژیک در استروئیدوژنز داشته باشد و بر باروری اسپرم تأثیر بگذارد. به علاوه، PPAR α ، بتا اکسیداسیون لیپیدها و ترکیب اسید چرب فسفولیپیدها را در سلول‌های جنسی تنظیم می‌کند که این امر، ترکیب لیپید اسپرم و بقای آن را تعدیل می‌کند و بر باروری آن تأثیرگذار است (۲۲، ۱۸).

نتیجه‌گیری

گیرنده‌های هسته‌ای PPARs، می‌توانند نقش محوری واسطه‌گری بین متابولیسم و تولید مثل را ایفا کنند. انرژی حاصل از متابولیسم گلوکز و چربی مشتق از مسیرهای پیام‌رسانی PPAR γ برای عملکرد مناسب سلول اسپرم ضروری است و تأثیر مستقیم بر باروری و جنین دارد. مطالعات اخیر برای درک نقش گیرنده‌های PPARs در تولید مثل، سؤالات جدیدی را ایجاد کرده است. از جمله این که «با توجه به نقش آگونیست‌های PPAR γ در فعال‌سازی مسیرهای متابولیک و تأثیرات مثبت مشاهده شده در افزایش ظرفیت و بهبود متغیرهای اسپرمی، آیا می‌توان از این ترکیبات به عنوان روشی نوین در روش‌های کمک باروری استفاده کرد؟» و این که «تأثیر مثبت آگونیست‌های PPAR γ از طریق تأثیر مستقیم بر بافت بیضه است یا هموستازی انرژی؟».

امروزه، واکای پروفایل mRNA در اسپرم‌های طبیعی و غیر طبیعی زمینه‌ی رو به رشدی است که می‌تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی و پیش‌آگهی دهنده به منظور ارزیابی باروری مردان مورد استفاده قرار گیرد. به نظر می‌رسد مطالعه‌ی گیرنده‌های هسته‌ای PPARs و بررسی نقش آنها در متابولیسم لیپید و گلوکز، بالانس انرژی و تأثیری که بر حرکت اسپرم دارند، بتواند افق‌های تحقیقاتی و درمانی جدید در تنظیم مسیرهای متابولیکی، حرکت اسپرم و در نهایت، درمان ناباروری مردان به ویژه ناباروری‌های ناشی از بیماری‌های متابولیک را فراهم کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، در راستای طرح جامع نقش PPARs در ناباروری جنس نر در پژوهشگاه رویان، گروه جنین‌شناسی تدوین شده است. بدین وسیله، از کلیه همکاران بخش‌های مختلف پژوهشگاه رویان جهاد دانشگاهی که در پیشبرد این طرح همکاری داشتند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

در دو نمونه‌ی اسپرم خوک مورد بررسی قرار دادند و بیان این گیرنده‌ها را در اسپرم خوک نیز به اثبات رساندند (۳۱).

نتایج این مطالعات که بر پایه‌ی Western-blot، RT-PCR و Immunofluorescence بود، نشان داد که اسپرم انسان و خوک PPAR γ را بیان می‌کند و این موضوع، بر فیزیولوژی اسپرم تأثیرگذار است. مشاهده‌ی بیان PPAR γ در ناحیه‌ی رأسی سر اسپرم در قسمت ساب اکروزومال و در قسمت میانی (گردن) گزارش شده است؛ اما در ناحیه‌ی دم، هیچ بیانی مشاهده نشده است. مجاورت سلول‌های اسپرم با لیگاندهای طبیعی (نظیر Prostaglandin J2 یا PGJ2) و مصنوعی (مانند PPAR γ (TZD) باعث افزایش واکنش آکروزومی و حرکت اسپرم می‌شود. به نظر می‌رسد، بیان بالای پروتئین‌های PPAR γ در اسپرم انزالی، بر نقش احتمالی PPAR γ در مسیرهای پیام‌رسانی تنظیم انرژی دلالت دارد و فعالیت آن، می‌تواند در طول لانه‌گزینی و واکنش آکروزومی القا شود که این امر، سبب افزایش عملکردی بلوغ اسپرم، افزایش حرکت اسپرم، لانه‌گزینی، واکنش آکروزومی، بقا و متابولیسم آن می‌شود (۲۹). در همین راستا، کدیور و همکاران، به بررسی بیان تمام ایزوتایپ‌های PPAR در سطح mRNA در اسپرم قوچ پرداختند. نتایج مطالعات آن‌ها بر پایه‌ی Real time-PCR نشان داد که هر سه ایزوتایپ PPAR در اسپرم قوچ بیان می‌شود. همچنین، این تیم تحقیقاتی نشان دادند که بیان ایزوتایپ‌های PPAR در گروهی که حرکت اسپرم‌های آن‌ها بیشتر است، به صورت معنی‌داری بیشتر از گروهی است که اسپرم‌های کم‌تحرك‌تری دارند (۳۲). در جدیدترین مطالعه‌ای که پیرامون مقایسه‌ی بیان گیرنده‌های PPARs در مردان بارور و نابارور صورت گرفته است، موسوی و همکاران، بیان ایزوتایپ‌های PPAR را در سلول‌های اسپرم انسان مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها برای نخستین بار، بیان ایزوتایپ‌های PPAR α و PPAR β را در این سلول‌ها به اثبات رساندند. این تیم تحقیقاتی، بیان هر سه ایزوتایپ PPAR را در دو گروه مردان دارای متغیرهای منی طبیعی و مردان آستنوزواسپرما (دارای اسپرم‌های با تحرك کمتر از مقدار رفرنس) با استفاده از تکنیک‌های RT-PCR، Western-Blot، Flow cytometry و Immunofluorescence بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که بیان PPAR γ در سطح mRNA در گروه مردان دارای متغیرهای منی طبیعی، به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه آستنوزواسپرما است. همچنین، نتایج بررسی بیان پروتئین PPAR γ تمایل به افزایش معنی‌داری را در گروه طبیعی نشان داد که این شواهد، ارتباط بین بیان PPAR γ و حرکت سلول‌های اسپرم را اثبات می‌کند (۳۳).

متابولیسم انرژی در سلول‌های اسپرم بسیار پیچیده است؛ چرا که مسیرهای متابولیکی بسیاری وجود دارد که از آن‌ها، قندهای ۶ کربنه می‌تواند مشتق شود؛ به این صورت که این سلول‌ها، نه تنها مسیرهای گلیکولیز و چرخه‌ی کربس را دارند، بلکه سنتز گلیکوژن و چرخه‌ی

References

- O'Flynn O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: A review. *Fertil Steril* 2010; 93(1): 1-12.
- Abbasihormozi S, Kouhkan A, Alizadeh AR, Shahverdi AH, Nasr-Esfahani MH, Sadighi Gilani MA, et al. Association of vitamin D status with semen quality and reproductive hormones in Iranian subfertile men. *Andrology* 2017; 5(1): 113-8.
- Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: Role of genetic background. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(6): 734-45.
- Sinclair S. Male infertility: Nutritional and environmental considerations. *Altern Med Rev* 2000; 5(1): 28-38.
- Quaas A, Dokras A. Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Rev Obstet Gynecol* 2008; 1(2): 69-76.
- Esmaeili V, Shahverdi AH, Moghadasian MH, Alizadeh AR. Dietary fatty acids affect semen quality: A review. *Andrology* 2015; 3(3): 450-61.
- Misro MM, Ramya T. Fuel/energy sources of spermatozoa. In: Parekattil SJ, Agarwal A, editors. *Male infertility: Contemporary Clinical approaches, andrology, art and antioxidants*. New York, NY: Springer; 2012. p. 209-23.
- Artini PG, Di Berardino OM, Simi G, Papini F, Ruggiero M, Monteleone P, et al. Best methods for identification and treatment of PCOS. *Minerva Ginecol* 2010; 62(1): 33-48.
- Alizadeh A, Esmaeili V, Shahverdi A, Rashidi L. Dietary fish oil can change sperm parameters and fatty acid profiles of ram sperm during oil consumption period and after removal of oil source. *Cell J* 2014; 16(3): 289-98.
- Rondanino C, Ouchchane L, Chauffour C, Marceau G, Dechelotte P, Sion B, et al. Levels of liver X receptors in testicular biopsies of patients with azoospermia. *Fertil Steril* 2014; 102(2): 361-71.
- Yang J, Chen L, Zhang X, Zhou Y, Zhang D, Huo M, et al. PPARs and female reproduction: Evidence from genetically manipulated mice. *PPAR Res* 2008; 2008: 723243.
- Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, et al. PPARgamma signaling and metabolism: The good, the bad and the future. *Nat Med* 2013; 19(5): 557-66.
- Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm Res* 2000; 49(10): 497-505.
- Singh D, Sharma I, Onteru S. Fuel sensor PPAR γ : A potential gateway for fertility regulation in buffalo. *Buffalo Bull* 2013; 32: 204-17.
- Dupont J, Chabrolle C, Rame C, Tosca L, Coyrat-Castel S. Role of the peroxisome proliferator-activated receptors, adenosine monophosphate-activated kinase, and adiponectin in the ovary. *PPAR Res* 2008; 2008: 176275.
- Wang L, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Blunder M, Liu X, Malainer C, et al. Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma): A review. *Biochem Pharmacol* 2014; 92(1): 73-89.
- El Akoum S. PPAR gamma at the crossroads of health and disease: A masterchef in metabolic homeostasis. *Endocrinol Metab Syndr* 2014; 3(1): 1000126.
- Froment P, Gizard F, Defever D, Staels B, Dupont J, Monget P. Peroxisome proliferator-activated receptors in reproductive tissues: From gametogenesis to parturition. *J Endocrinol* 2006; 189(2): 199-209.
- Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences; 2010.
- Wieser F, Waite L, Depoix C, Taylor RN. PPAR action in human placental development and pregnancy and its complications. *PPAR Res* 2008; 2008: 527048.
- Liu LL, Xian H, Cao JC, Zhang C, Zhang YH, Chen MM, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma signaling in human sperm physiology. *Asian J Androl* 2015; 17(6): 942-7.
- Latini G, Scoditti E, Verrotti A, De FC, Massaro M. Peroxisome proliferator-activated receptors as mediators of phthalate-induced effects in the male and female reproductive tract: Epidemiological and experimental evidence. *PPAR Res* 2008; 2008: 359267.
- Froment P. PPARs and RXRs in male and female fertility and reproduction. *PPAR Res* 2008; 2008: 637490.
- Ishikawa T, Fujioka H, Ishimura T, Takenaka A, Fujisawa M. Expression of leptin and leptin receptor in the testis of fertile and infertile patients. *Andrologia* 2007; 39(1): 22-7.
- Dupont J, Reverchon M, Bertoldo MJ, Froment P. Nutritional signals and reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382(1): 527-37.
- Esmaeili V, Shahverdi AH, Alizadeh AR, Alipour H, Chehrazai M. Saturated, omega-6 and omega-3 dietary fatty acid effects on the characteristics of fresh, frozen-thawed semen and blood parameters in rams. *Andrologia* 2014; 46(1): 42-9.
- Bionaz M, Chen S, Khan MJ, Loor JJ. Functional role of PPARs in ruminants: Potential targets for fine-tuning metabolism during growth and lactation. *PPAR Res* 2013; 2013: 684159.
- Huang JC. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in the development and physiology of gametes and preimplantation embryos. *PPAR Res* 2008; 2008: 732303.
- Aquila S, Bonofiglio D, Gentile M, Middea E, Gabriele S, Belmonte M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma is expressed by human spermatozoa: its potential role on the sperm physiology. *J Cell Physiol* 2006; 209(3): 977-86.
- Seifi S, Shahverdi A, Rezaei TT, Sharafi M, Esmaeili V, Choobineh H, et al. Inclusion of ovine enriched serum with vitamin E and polyunsaturated fatty acids in the freezing medium: A new strategy to improve

- human frozen-thawed sperm parameters. *Andrologia* 2020; 52(4): e13541.
31. Santoro M, Guido C, De Amicis F, Sisci D, Vizza D, Gervasi S, et al. Sperm metabolism in pigs: A role for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma). *J Exp Biol* 2013; 216(Pt 6): 1085-92.
 32. Kadivar A, Heidari KH, Hassanpour H, Ghanaei H, Golestanfar A, Mehraban H, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARalpha, PPARgamma and PPARbeta/delta) gene expression profile on ram spermatozoa and their relation to the sperm motility. *Vet Res Forum* 2016; 7(1): 27-34.
 33. Mousavi MS, Shahverdi A, Drevet J, Akbarinejad V, Esmaeili V, Sayahpour FA, et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) levels in spermatozoa of normozoospermic and asthenozoospermic men. *Syst Biol Reprod Med* 2019; 65(6): 409-19.
 34. Shimizu Y, Yorimitsu A, Maruyama Y, Kubota T, Aso T, Bronson RA. Prostaglandins induce calcium influx in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 1998; 4(6): 555-61.
 35. Swegen A, Lambourne SR, Aitken RJ, Gibb Z. Rosiglitazone Improves Stallion Sperm Motility, ATP Content, and Mitochondrial Function. *Biol Reprod* 2016; 95(5): 107.

The Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) in Male Fertility

Motahareh Sadat Mousavi¹, Abdolhossein Shahverdi², Mohsen Sharafi³, Pegah Rahimizadeh¹, Ali Reza Alizadeh⁴

Review Article

Abstract

Nowadays, infertility is one of the most common problems in the world. Statistics show that about 20.2% of Iranian couples are infertile, which is higher than the global average (12-15 percent); and according to the reports, 70% of these disabilities had male factors. New approaches are available to diagnose male infertility problems; one of them is the study of nuclear receptors. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are ligand-activated transcription factors belonging to the nuclear hormone receptor super family that have been implicated in energy homeostasis, and modulate lipid and glucose metabolism. Although several studies have been confirmed the pivotal roles of these receptors on fatty acid metabolism and female fertility, fewer information exist on PPARs roles in male fertility. Thus, in this review, we at first illustrated the role of PPARs in reproductive tissues. Then, specific studies on the effect of these receptors and their ligands in male reproductive tissues were described. Regarding the crucial role of sperm metabolism and producing sufficient energy for sperm motility in male fertility, the regulation of PPARs expression, particularly the PPAR γ isotype on spermatogenesis and sperm movement parameters were investigated, in the following. It seems that the study of these receptors and their role in sperm metabolism, may afford novel research opportunities for the recognition of these receptors and their interactions with other nuclear receptors role in male infertility disorders imputable to metabolic diseases such as obesity and diabetes.

Keywords: Sperm; Peroxisome proliferator-activated receptors; Metabolism; Infertility; Male; Reproduction

Citation: Mousavi MS, Shahverdi A, Sharafi M, Rahimizadeh P, Alizadeh AR. **The Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) in Male Fertility.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(583): 503-11.

1- Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Academic Center for Education, Culture, and Research (ACECR), Tehran, Iran

2- Professor, Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center AND Reproductive Epidemiology Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Academic Center for Education, Culture, and Research (ACECR), Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Poultry Science, School of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Academic Center for Education, Culture, and Research (ACECR), Tehran, Iran

Corresponding Author: Ali Reza Alizadeh, Assistant Professor, Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Academic Center for Education, Culture, and Research (ACECR), Tehran, Iran; Email: alizadehmasouleh@royaninstitute.org