مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هشتم، شماره هفت، مهر ۱۳۹۹
تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۰۸/۰۵
تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۱۱/۱۹

مروری بر کاربرد کشت سه بعدی و داربست‌های بیضه‌ای در القای اسپرماتوژنز آزمایشگاهی

نسرین مجیدی قره‌ناز[۱]، منصوره موحدین*[۲]، سامیه مجیدی[۳]، زهره مظاهری[۴]

مقاله مروری

مقدمه: القای اسپرماتوژنز آزمایشگاهی می‌تواند برای درمان ناباروری در افراد آزواسپرمی و افرادی که تحت شیمی‌درمانی قرار گرفته‌اند سودمند باشد. برای رسیدن به این هدف سیستم‌های کشت مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی کاربرد کشت سه بعدی و داربست‌های بیضه‌ای در القای اسپرماتوژنز آزمایشگاهی انجام شده است.

در این مطالعه مروری، اطلاعات مربوط به کاربرد کشت سه‌بعدی و داربست‌های بیضه‌ای در ایجاد اسپرماتوژنز آزمایشگاهی از پایگاه‌های اطلاعاتی نظیر SID، Magiran، PubMed، Irandoc، Iranmedx Scopus، Google Scholar و web of science با استفاده از کلیدواژه‌های فارسی: کشت سه‌بعدی، داربست بیضه‌ای، اسپرماتوژنز، سلول بنیادی اسپرماتوگونی و کلیدواژه‌های انگلیسی: spermatogenesis, three dimentional culture, testicular scaffold, stem cell بدون محدودیت زمانی جستجو شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌صورت کیفی انجام شد. در نهایت برای تنظیم مقاله از ۳۵ مقاله به‌زبان فارسی و انگلیسی استفاده گردید.

برای القا فرآیند اسپرماتوژنز در شرایط آزمایشگاهی از روش‌های کشت سه‌بعدی مانند کشت بافت بیضه، سیستم کشت آگار نرم، داربست‌های مواد زیستی طبیعی مانند کلاژن و داربست‌های مشتق از بیضه سلول‌زدایی شده استفاده شده است.

نتیجه‌گیری: کشت سه بعدی با استفاده از داربست‌ها و سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی می‌تواند برای القا اسپرماتوژنز آزمایشگاهی مورد استفاده قرارگیرد حال آنکه در مسیر تولید اسپرم بارور برای درمان ناباروری چالش‌های تکنیکی و اخلاقی وجود دارد که نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسپرماتوژنز، داربست، بیضه، کشت سلولی

ارجاع: مجیدی قره‌ناز نسرین، موحدین منصوره، مجیدی سامیه، مظاهری زهره. **مروری بر کاربرد کشت سه بعدی و داربست‌های بیضه‌ای در القای اسپرماتوژنز آزمایشگاهی**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۹؛ ۲۸ (۷): ۲۸۰۵-۲۷۹۴.

۱-دانش آموخته دکتری تخصصی علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲-استاد تمام گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۳-دانش آموخته کارشناسی ارشد پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۴-دکتری تخصصی علوم تشریح، مرکز تحقیقات علوم پایه، شرکت بافت و ژن، تهران، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۳۲۰۱۱۳۶، پست الکترونیکی: movahed.m@modares.ac.ir، صندوق پستی: ۱۹۳۶۸۳۶۳۵۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

مقدمه

اسپرماتوژنز یک فرآیند پیچیده تکثیر و تمایز سلول‌های زایا می‌باشد که منجر به تولید اسپرم بارور می‌گردد و شامل انواع مختلفی از سلول‌های تمایز نیافته و تمایز یافته می‌باشد که در داخل لوله‌های سمی‌نفروزیس بیضه واقع شده‌اند. سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی سلول‌های دیپلوئید هستند و به غشای پایه لوله‌های سمی‌نفروزیس متصل هستند و فرآیند اسپرماتوژنز را آغاز کرده و در سرتاسر دوره بزرگسالی حفظ می‌کنند (۱،۲). این سلول‌ها در داخل لوله‌های سمی‌نفروزیسیس بیضه، تقسیم شده و دو نوع سلول دختری شامل سلول‌های بنیادی جدید و سلول‌های پروژنیتور را ایجاد می‌کنند. این روند در داخل بدن تحت کنترل فاکتورهای مختلف از جمله هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، سیتوکین‌ها و پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی است. هر کدام از این فاکتورها برهم کنش بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های زایا می‌تواند فرآیند اسپرم‌زایی را تحت تاثیر قرار دهد. نقص هر یک از این عوامل می‌تواند منجر به ناباروری مردانه گردد (۳). برای درمان ناباروری مردان می‌توان از پیوند سلول‌های بنیادی به روش پیوند in vivo و in vitro استفاده نمود. روش پیوند in vivo در بیمارن سرطانی که تحت شیمی‌درمانی قرار گرفته‌اند، به علت خطر بازگرداندن سلول‌های سرطانی به بدن امکان‌پذیر نمی‌باشد. تلاش‌های زیادی برای تمایز آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی به اسپرم بالغ در حال انجام هست. تمایز آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و تولید اسپرم بارور نیازمند یک بستر و محیط کشت مناسب است تا بتواند تکثیر و تمایز سلول‌ها را حمایت کند. در این مطالعه مروری، اطلاعات مربوط به کاربرد کشت سه بعدی و داربست‌های بیضه‌ای در ایجاد اسپرماتوژنز آزمایشگاهی از پایگاه‌های اطلاعاتی نظیر SID، Magiran، PubMed، Irandoc، Iranmedx Scopus، Google Scholar و web of science با استفاده از کلیدواژه‌های فارسی: کشت سه بعدی، داربست بیضه‌ای، اسپرماتوژنز، سلول بنیادی اسپرماتوگونی و کلیدواژه‌های انگلیسی: three dimentional spermatogenesis, culture, testicular scaffold, spermatogonial stem cells, بدون محدودیت زمانی جستجو شد. و از بین ۳۰۰ مقاله، تعداد ۳۵ مقاله به زبان فارسی و انگلیسی برای مطالعه دقیق‌تر و تنظیم این مقاله مروری استفاده گردید.

فرآیند اسپرماتوژنز و رویکردهای القای این فرآیند در محیط in vivo و in vitro

اگرچه پژوهش در مورد روند اسپرماتوژنز در آزمایشگاه از اوایل قرن گذشته شروع شده است، ولی تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی به‌اسپرم به‌عنوان یک چالش همچنان باقی مانده است. فرآیند اسپرماتوژنز در محیط داخل بدن درون لوله‌های سمی‌نفروزیسیس بیضه رخ می‌دهد. در طی این فرآیند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی، تقسیم شده و دو نوع سلول دختری شامل سلول‌های بنیادی جدید و سلول‌های پروژنیتور را ایجاد می‌کنند. این روند در گونه‌های مختلف پستانداران متفاوت است. در انسان و پریمات‌های غیرانسانی، دو نوع اسپرماتوگونی تمایزنیافته از نظر ظاهری قابل تشخیص است که اسپرماتوگونی (رنگ پریده) Apale و (تاریک) Adark نامیده می‌شوند. خصوصیات اسپرماتوگونی Adark با ویژگی‌های سلول‌های بنیادی بیضه سازگار است، در حالی‌که Apale ویژگی‌های یک سلول پروژنیتور را نشان می‌دهد (۴-۷). در جوندگان مانند رت‌ها و موش‌ها، رده‌های مختلفی از این سلول‌ها موجود می‌باشد که از جمله این رده‌ها می‌توان به‌سلول‌های اسپرماتوگونی رده A و B اشاره کرد. سلول‌های اسپرماتوگونی نوع A شامل اسپرماتوگونی A0 (تمایزنیافته) و اسپرماتوگونی A1 تا A4 (در حال تمایز) هستند (۸-۱۰). تقسیمات میتوزی اسپرماتوگونی A1 اسپرماتوگونی‌های نوع A2، A3، A4، اسپرماتوگونیای حد واسط و اسپرماتوگونی B را ایجاد می‌کند. اسپرماتوگونی B به‌اسپرماتوسیت اولیه تبدیل می‌شود که میوز را شروع می‌کند و پس از انجام دو تقسیم میوزی به‌ترتیب اسپرماتوسیت ثانویه و اسپرماتید را ایجاد می‌کند که در ادامه تحت شانزده مرحله تغییر مورفولوژی قرار می‌گیرند و نهایتاً به‌اسپرماتوزوآ تبدیل می‌شوند (۸). در همه گونه‌ها، جمعیت کمی از سلول‌های بنیادی بیضه‌ای به‌عنوان

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

یک ذخیره عمل می‌کند که دارای ظرفیت زیادی برای کلونیزاسیون لوله‌های سمی‌نفروزیس می‌باشد. سلول‌های بنیادی در هر چرخه اپیتلیوم لوله‌های سمی‌نفروزیسیس فعال هستند (۴،۶). فرآیند اسپرماتوژنز تحت کنترل هورمون‌ها و فاکتورهای اتوکرین پاراکرین می‌باشد (۱۱). یکی از عوامل مهم در این مورد تعامل بین سلول‌های زایای در حال تکوین و سلول‌های پشتیبان اطراف مانند سرتولی است. سلول‌های پری-توبولار و سلول‌های بینابینی مختلف مانند سلول‌های لیدیگ، ماکروفاژها و سلول‌های اندوتلیال با ترشح فاکتورهای مختلف، تکوین سلول‌های زایا را تنظیم می‌کنند (۱۳،۱۲) که باید نقش آن‌ها در القا اسپرماتوژنز آزمایشگاهی مدنظر قرار گیرد. در طی سال‌های گذشته، روش‌های مختلفی برای القا روند اسپرماتوژنز شامل کشت دو بعدی، کشت سه بعدی، کشت بافت بیضه بر روی ژل آگارز و پیوند سلول‌ها به بیضه آزواسپرمی و کشت سلول‌ها با استفاده از بست‌های بیضه‌ای مطرح شده است.

کشت دو بعدی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی

کشت سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی به یک رویکرد رایج برای مطالعه تأثیر محیط و فاکتورهای زیست مولکولی دخیل در تنظیم تکثیر و تمایز آن‌ها تبدیل شده است. گرچه ترکیب سلولی و سیگنال‌های تولید شده در کشت دو بعدی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی با شرایط داخل بدن تفاوت چشمگیری دارند (۱۴، ۴). مطالعات زیادی در مورد کشت دو بعدی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی به‌منظور کشف شرایط مطلوب برای القا و پیشبرد اسپرماتوژنز کامل انجام شده است. این مطالعات توانسته بر موانع زیادی از جمله شناسایی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی غلبه کند. تا همین اواخر، مارکرهای بیوشیمیایی برای شناسایی بدون ابهام سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی وجود نداشت که تا حد زیادی مانع از ارزیابی نقش آن‌ها به‌عنوان آغازگر در کشت سلولی بود. شناسایی مارکرهای اختصاصی برای سلول‌های زایا مانند GFR-a1, CD9, and Thy-1 منجر به جداسازی سلول‌های بنیادی از بیضه شده و استفاده از آن‌ها را در شرایط آزمایشگاهی ممکن کرد (۱۵). تعداد بسیار کم سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی در بیضه (۲-۳ سلول بنیادی به ازای 10^4 سلول زایا در بیضه فرد بالغ) از جمله موانع دیگر بود که هنوز هم باقی مانده است (۱۶). مشخص شده که فاکتورهای مختلفی مانند فاکتور نوروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیال (GDNF)، فاکتور مهارکننده لوسمی (LIF) باعث القای تکثیر در این سلول‌ها می‌گردند (۱۸، ۱۷). برای غلبه بر محدودیت‌های فوق، استراتژی‌های مختلفی اتخاذ شده است. جداسازی و غنی‌سازی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی با استفاده از آنتی‌بادی‌ها بر علیه مارکرهای سلول زایا انجام شده است. استفاده از بافت‌های بیضه‌ای نوزادان برای جداسازی وکشت سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی باعث شده تا تعداد بیشتری سلول بنیادی تمایزنیافته فراهم گردد (۱۹). هم‌چنین کشت بر روی لایه سلول تغذیه کننده چسبنده مانند سلول‌های Vero، سلول‌های سرتولی و لیدیگ، سیستم کشت بدون سرم و بدون لایه تغذیه کننده، محیط اختصاصی سلول‌های مختلف، فاکتورهای رشد نوترکیب مانند LIF، GDNF، فاکتور رشد بنیادی فیبروبلاست بازی (bFGF:FGF2) و فاکتور سلول بنیادیSCF برای القای بقاء و تکثیر سلول‌های بنیادی در شرایط آزمایشگاهی استفاده شده است. Kubuta و همکاران فاکتورهای مورد نیاز برای خود تجدیدی و گسترش سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که فاکتورهای LIF و SCF تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را تحت‌تاثیر قرار می‌دهند. هم‌چنین این فاکتورهای رشد نقش مهمی در خودتجدیدی و تمایز سلول‌های بنیادی رویانی و سلول‌های زایای بدوی دارند. این محققان اثرات فاکتورهای رشد اپیدرمی، فاکتور رشد شبه انسولینی-۱ IGF-1 و Noggin را به‌صورت مجزا بر روی تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی بررسی کردند. در میان این فاکتورها، فقط IGF-1 به‌طور معنی‌دار میزان فعالیت سلول‌های بنیادی را افزایش داد (۲۰). نتایج مطالعات Naughton و همکاران نشان داد که سیگنالینگ GDNF از طریق کمپلکس گیرنده RET تیروزین‌کیناز GFRA1 برای خود تجدیدی سلول‌های اسپرماتوگونی مورد نیاز است (۲۱). نتایج مطالعات Meng و همکاران حاکی از آن است که ترشح فاکتور GDNF توسط

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

سلول‌های سرتولی می‌تواند خودتجدیدی و تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را تنظیم کند (۲۲). ارتباط مستقیم سلول به سلول بین سلول‌های زایا و سلول‌های تغذیه‌کننده هم می‌تواند برای اسپرماتوژنز طبیعی مهم باشد که در سیستم کشت منفرد وجود ندارد. سیستم کشت منفرد، میزان بقا و تکثیر سلول‌های زایا را در مقایسه با سیستم هم‌کشتی با سلول‌های تغذیه‌کننده، به صورت قابل‌توجهی کاهش می‌دهد. در مطالعات اولیه در موش، نشان داده شده است که هم‌کشتی سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی با سلول‌های فیبروبلاست بقای آن‌ها را برای چندین ماه حمایت می‌کند (۲۳). نتایج بررسی میرزاپور همکاران نشان داد که تعداد کلونی‌های به دست آمده در گروه هم کشتی با سلول‌های سرتولی تازه به‌صورت معنی‌داری بیشتر از زمانی بود که سلول‌ها به تنهایی کشت داده شدند (۲۴). رسول‌زادگان و همکارانش گزارش کردند که سلول‌های زایای موش در هم‌کشتی با سلول‌های سرتولی، هرچند توانستند از میوز عبور کنند اما تا اسپرماتوزوآی بالغ پیشرفت نکردند (۲۵). هیچ یک از شرایط کشت دو بعدی ذکر شده در بالا در پیشبرد تمایز سلول‌های بنیادی به اسپرم بالغ موفق نبوده است، اگرچه تمایز سلول‌های زایای به مراحل اسپرماتوسیتی گزارش شده است (۱۱، ۴). کشت دو بعدی خود تجدیدی و تکثیر سلول‌های بنیادی را حمایت می‌کند اما آرایش فضایی موجود در محیط طبیعی را فراهم نمی‌کند لذا سلول‌ها نمی‌توانند میوز را تکمیل کنند. سلول‌های میوزی در محیط طبیعی در بین سلول‌های سرتولی به‌عنوان کلونی‌های بزرگ مرتبط به هم، بدون تماس با غشای پایه قرار گرفته‌اند و چنین ساختار پیچیده‌ای به‌وسیله کشت دو بعدی فراهم نمی‌گردد (۲۶).

کشت بافت بیضه

در گذشته، مطالعه اسپرماتوژنز در شرایط آزمایشگاهی با کشت بافت بیضه‌ای از نوزاد جوندگان آغاز شد. مزیت اصلی این رویکرد این است که سلول‌های زایا آرایش سلولی و کنام خود را در زمان رشد حفظ می‌کنند (۲۹-۲۷). این مطالعات تا حد زیادی نتوانستند اسپرماتوژنز را فراتر از مراحل میوتیکی نشان دهند، اما اخیراً ساتو و همکاران یک پروتکل طراحی کردند که حاکی از انجام اسپرماتوژنز در آزمایشگاه و پیشرفت روند تمایز سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و تشکیل اسپرم با استفاده ازکشت بافت بیضه بود، سلول‌های اسپرماتوگونی در ریز محیط لوله‌های سمی‌نفروس کلونی تشکیل دادند و بعد از ۶ هفته کشت به یک اسپرم بارور تمایز یافتند (۳۰). رحل و همکاران نیز توانستند با کشت قطعات بیضه موشی بر روی ژل آگارز و با استفاده از فاکتورهای رشد مختلف، بیان ژن‌های پست میوزی مانند Tnp1 را در سطح مولکولی اثبات کنند (۳۱)

پیوند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی

پیوند سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی اولین بار توسط برینستر و همکارانش برای تایید وجود و عملکرد سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی انجام شد. تزریق این سلول‌ها به ابتدای بیضه موش‌های تیمار شده با بوسولفان، نشان داد که سلول‌ها به لوله‌های سمی‌نفروزیس مهاجرت کرده و در اسپرماتوژنز کامل شرکت نموده و اسپرم بارور تولید کردند. تولید اسپرم بالغ به‌وسیله سلول‌های بنیادی پیوندی حاکی از اهمیت ریز محیط اختصاصی بیضه در فرآیند اسپرماتوژنز دارد (۳۲). آبسالان و همکاران سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را به بیضه موش مدل کریپتورکیدیسم پیوند زدند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که در گروه‌های پیوندی، تولید اسپرم به میزان معنی‌داری نسبت به گروه غیرپیوندی افزایش یافت (۳۳). کروجی و همکاران سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی موشی تازه و منجمد ذوب شده را به‌صورت اتوگرافت به بیضه گاما دیده پیوند زدند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که میانگین درصد پرشدن لوله‌های سمی نفروس در گروه‌های پیوندی تفاوت معنی‌داری با گروه‌های بدون پیوند دارد. هم‌چنین سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی بعد از پیوند منجر به تولید اسپرم شدند (۳۴). گروه دیگری از محققین، تکنیک پیوند سلول‌های اسپرماتوگونی را در گونه میمون رزوس انجام دادند. آن‌ها گزارش کردند که سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی تزریق شده به لوله‌های سمی‌نفروزیسیس تا رده اسپرم تمایز یافتند (۳۵). بروک و همکارنش در سال ۲۰۰۱ گزارش کردند که سلول‌های زایا از

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

افراد جداسازی شده و به مدت کوتاهی در دماهای پایین حفظ و دوباره به همراه رنگ حیاتی تریپان بلو به صورت اتوگرافت به خودشان پیوند زده شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که ۵۵٪ لوله‌های سمی‌نفروس بیضه گیرنده، رنگ گرفته و سلول ها روی غشای پایه نشست کرده‌اند (۳۶). محقق و همکاران در سال ۲۰۱۷ سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی را از بافت‌های بیضه‌ای جدا کرده و از طریق افرنت داکتیولی به درون لوله‌های سمی‌نفروزیسیس بیضه آزواسپرمی تزریق نمودند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که پس از دو هفته سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی بر روی غشای پایه لوله‌های سمی‌نفروزیسیس نشست کرده‌اند (۳۷). هم‌چنین این گروه سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی جدا شده از بافت بیضه منجمد-ذوب شده را به بیضه‌های آزواسپرمی تزریق کرده و به‌مدت هشت هفته در محیط آزمایشگاهی بر روی ژل آگارز کشت دادند و تولید سلول‌های هاپلوییید را گزارش کردند (۳۸).

پیوند آلوگرافت و زنوگرافت قطعات بیضه

قطعات بیضه زیر پوست موش بالغ با نقص ایمنی پیوند زده می‌شود. تولید اسپرم بارور از آلوگرافت و زنوگرافت‌های بیضه نشان داده شده است و وابسته به سن و گونه می‌باشد (۳۹،۴۰). هر سه تکنیک فوق از این استدلال از این پشتیبانی می‌کنند که سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی نیاز به سلول‌های پشتیبان و قرار گرفتن در معرض ریز محیط لوله سمی‌نفروزیس، از جمله هورمون‌های اختصاصی و عوامل پاراکرین برای پیش بردن کامل اسپرماتوژنز نیازمند هستند. همانطور که قبلاً گفته شد، این عناصر به‌طور معمول در سیستم‌های کشت دو بعدی وجود ندارد. بنابراین با بهبود شرایط کشت که بتواند ریز محیط مشابه با لوله سمی‌نفروزیس را تقلید کند می‌توان به تولید اسپرم بارور از سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی دست یافت (۴۴-۴۱).

استفاده از کشت سه بعدی برای ایجاد اسپرماتوژنز آزمایشگاهی

سیستم‌های کشت سه بعدی در ابتدا برای ارزیابی کلونیزایی سلول‌های بنیادی خون‌ساز و کشف مکانیسم‌های پیچیده دخیل در تکثیر و تمایز آن‌ها ایجاد شد (۴۵). تطابق این رویکرد با سیستم تولید مثل مردان شواهد غیرقابل‌انکاری را فراهم کرد مبنی بر این‌که سلول‌های زایای بیضه می‌توانند در خارج از بدن تا مرحله اسپرماتید کشیده تمایز یابند (۴۸-۴۶). کشت سه بعدی سلول‌های زایای بیضه، می‌تواند ریز محیط (کنام) اپیتلیوم لوله‌های سمی‌نفروزیس را تقلید کند. این سیستم درک ما را از بر هم‌کنش بین سلول‌های سرتولی و سلول‌های زایا و بین سلول‌های زایا و ماتریکس خارج سلولی و تأثیر این برهم‌کنش‌ها در روند اسپرماتوژنز افزایش می‌دهد. نقش اساسی سلول‌های سرتولی و ماتریکس خارج سلولی در بقا، تمایز سلول‌های زایا به خوبی شناخته شده است (۴۹). ایجاد کشت سه بعدی در محیط آزمایشگاهی می‌تواند به‌وسیله قراردادن سلول‌ها در داربست انجام شود. داربست‌ها چسبندگی، تکثیر و مهاجرت سلولی، انتشار فاکتورهای بیوشیمیایی و مواد مغذی را تسهیل می‌کنند. برای تهیه داربست‌ها می‌توان از پلیمرهای مصنوعی مانند پلی‌گلیکولیک‌اسید، مواد زیستی طبیعی از جمله کلاژن و آلژینات، ماتریکس طبیعی بدون سلول استفاده نمود (۵۱ ،۵۰). مواد زیستی طبیعی برای توسعه داربست‌ها می‌تواند شامل اجزاء ماتریکس خارج سلولی از قبیل کلاژن، فیبرینوژن، هیالورونیک اسید باشد. این‌گونه داربست‌ها دارای مزیت‌هایی نظیر زیست‌سازگار بودن، زیست فعال بودن و ویژگی‌های مکانیکی مشابه بافت طبیعی هستند. سایر مواد زیستی طبیعی مانند سلولز، کیتوزان و فیبروئین ابریشم، از گیاهان، حشرات به‌دست می‌آیند. امروزه پلیمرهای طبیعی به شکل سوسپانسیون‌های ویسکوز ژلی یا به شکل اسفنج متخلخل استفاده می‌گردند (۵۲). کلاژن یکی از فراوان‌ترین پروتئین‌هایی است که در بدن یافت می‌شود. این پلیمر یک پروتئین فیبری و جزء اصلی ماتریکس خارج سلولی است. به همین علت از کلاژن در بازساری بافت، به‌ویژه بافت نرم استفاده می‌گردد. از جمله منابع معمول تهیه کلاژن می‌توان به پوست گاو یا خوک اشاره کرد. کلاژن شامل گروه‌های جانبی متصل به سلول است که این تعاملات ممکن است به حفظ شکل ظاهری و فعالیت بسیاری از انواع سلول‌ها کمک کند (۵۳). القای فرآیند اسپرماتوژنز با استفاده از داربست‌های مواد زیستی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

طبیعی، به‌وسیله قرار دادن انواع مختلف سلول‌های جدا شده از لوله‌های سمی‌نفروزیسیس در یک ماتریس ژل کلاژن حاصل می‌شود. به این ترتیب، یک پشتیبانی مناسب برای اسپرماتوگونی‌های جدا شده برای بر هم‌کنش با سلول‌های سرتولی و سایر عناصر ساختاری و تولید کننده هورمون فراهم می شود. این روش، بقای سلول‌های زایا، تقسیم میوزی سلول‌ها و تمایز آن‌ها به سلول‌های شبه‌اسپرماتید را افزایش می‌دهد (۱۳). ایجاد اسپرماتوژنز در کشت سه بعدی در گونه‌های مختلف گزارش شده است. برای مثال Lee و همکاران از داربست‌های ایجاد شده به‌وسیله کلاژن و سدیم آلژینات برای القا اسپرماتوژنز در سلول‌های زایای جدا شده از بافت استفاده کردند و موفق به تولید اسپرماتید شدند (۵۴، ۴۷، ۱۳). Stukenborg و همکاران از سیستم کشت آگار نرم (SACS) برای کشت سلول‌های اسپرماتوگونی استفاده کردند. سیستم کشت آگار نرم بوسیله‌ی فراهم کردن یک لایه ضخیم برای سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی و سلول‌های سوماتیک بیضه‌ای، ریزمحیطی شبیه اپی‌تلیوم سمی‌نفروزیسیس‌ها را ایجاد می‌کند که می‌تواند مانع ایسکمی در رشد طولانی مدت بافت گردد (۴۸). خواجوی و همکاران سیستم کشت سه بعدی بر پایه ژل کلاژن استخراج شده از دم رت طراحی کردند. سلول‌های اسپرماتوگونی موش با دو مرحله هضم آنزیمی و MACS جداسازی و به دو گروه تقسیم شدند. گروه یک: سلول‌های اسپرماتوگونی در محیط کشت سه بعدی ژل کلاژن بدون سلول‌های سوماتیک کشت داده شدند. گروه دو: سلول‌های اسپرماتوگونی با سلول‌های سوماتیک سرتولی و سلول‌های اطراف لومینال کشت داده شدند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که هم کشتی سلول‌های اسپرماتوگونی با سلول‌های سوماتیک اثرات مثبتی در بیان مارکرهای میوزی، پست میوزی و تشکیل کلونی داشت (۲۶).

داربست‌های مشتق از بافت بیضه سلول‌زدایی شده

در سال‌های اخیر توجهات زیادی برای تولید داربست‌های بیولوژیکی از بافت بیضه جلب شده است. بافت بیضه شامل ساختارهایی بنام لوله‌های سمی‌نفروزیسیس است. اپی‌تلیوم سمی‌نفروزیسیس به‌وسیله یک تیغه پایه و یک لامینا پروپریا تقویت می‌گردد. این لوله‌ها به‌وسیله ماتریکس خارج سلولی از یکدیگر مجزا می‌شوند. ماتریکس خارج سلولی بیضه غنی از گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، پروتئین‌های لامینین، کلاژن و فیبرونکتین است (۵۷-۵۵). ماتریکس خارج سلولی بافت بیضه‌ای مسئول انتقال مولکول‌های زیست فعال است که ارتباط بین اجزاء مختلف سلولی را فراهم می‌کند و مکالمه متقابل بین اپی‌تلیوم سمی‌نفروزیسیس و بافت بینابینی را به‌وسیله تشکیل یک سد فیلتراسیون انتخابی برای مواد فعال بیولوژیکی تسهیل می‌کند. مطالعات نشان داده که اجزاء ماتریکس خارج سلولی مانند لامینین و کلاژن برای بازسازی رویدادهایی که در اپی‌تلیوم سمی‌نفروزیسیس در طول اسپرماتوژنز رخ می‌دهد مهم است (۵۸). استفاده از ماتریکس خارج سلولی طبیعی به‌عنوان یک داربست، بستر رشد اایده‌الی را فراهم می‌کند، زیرا ریزمحیط اختصاصی بافت را تقلید می‌کند (۵۹). Baert و همکاران در سال ۲۰۱۴ برای اولین بار قطعاتی از بافت بیضه انسانی را با استفاده از دترجنت‌ها سلول‌زدایی کردند. نتیجه بررسی آن‌ها نشان داد که در بین دترجنت‌های غیریونی تریتون X-100 و دترجت یونی SDS برای سلول‌زدایی قطعات بیضه انسانی، SDS با کارآمدی بالاتری فرآیند سلول‌زدایی را انجام می‌دهد (۶۰). آن‌ها در سال ۲۰۱۷ دیسک‌هایی را از داربست‌های بیضه ای تهیه کرده و سپس سلول‌های بیضه‌ای مشتق از بیضه‌های نابالغ را بر روی آن‌ها کشت دادند. داربست‌های بیضه، خود تجمعی سلول‌های بیضه‌ای به ساختارهای ارگانوئید را حمایت کردند ولی ساختار یک بیضه تیپیک بازسازی نشد و داربست‌های بیضه‌ای در طی زمان به‌وسیله سلول‌ها بازآرایی شدند (۶۱).

Vermeulen و همکاران، قطعاتی از بافت بیضه خوکی را با استفاده از پروتکل ترکیبی دترجنت‌های یونی و غیریونی سلول‌زدایی کردند و سپس سلول‌های سرتولی را بر روی داربست‌های تهیه شده کشت دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که سلول‌های سرتولی توانستند به داربست بیضه‌ای بچسبند و تکثیر یابد (۶۲). آن‌ها سرنوشت سلول‌های ژرم را در حضور داربست تهیه شده مورد بررسی قرار ندادند. اخیراً ما بافت‌های بیضه موشی را به‌صورت

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

کامل و قطعه نشده با روش غوطه‌وری در داخل دترجنت‌ها سلول‌زدایی کرده سپس سوسپانسیونی از سلول‌های اسپرماتوگونی و سرتولی را مجرای وابران به داخل داربست‌ها تزریق کردیم و پس از هشت هفته کشت بر روی ژل آگارز، روند اسپرماتوژنز را بررسی نمودیم (۶۳). روش سلول‌زدایی ما، پروتئین‌های مهم ماتریکس خارج سلولی را در داربست‌های بیضه‌ای حفظ نمود. داربست‌های بیضه‌ای سلول‌زدایی شده، زیست‌سازگار بوده و تاثیر منفی بر بقای سلول‌های فیبروبلاست جنین موشی و اسپرماتوگونی نداشتند. سلول‌های اسپرماتوگونی توانستند بعد از تزریق به داربست بیضه‌ای تکثیر یافته و کلونی‌هایی را ایجاد نمایند که شبیه ساختارهای ارگانوئید بودند اما قادر به تشکیل اپی تلیوم مطبق کاذب سمی‌نفروزیسیس توبول‌ها نبودند و یک ساختار بیضه تیپیک بازسازی نشد. در حقیقت کشت سلول‌ها بر روی سطح اپیکال داربست‌های بیضه ای یا تزریق آن‌ها به درون لوله‌های سمی‌نفروس و بافت بینابینی نتایج مشابهی را داشت و باعث تکثیر سلول‌های زایا و سرتولی و ایجاد ساختارهای ارگانوئیدی در داربست بیضه‌ای گردید. سلول‌های در حال تکثیر با ترشح آنزیم‌های پروتئولیتیک باعث تجزیه غشای پایه سمی‌نفروزیس توبول‌ها شده و سپس با ترشح پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی جدید در اطراف خود باعث بازآرایی داربست‌ها شدند. بررسی مولکولی نشان داد که میزان بیان ژن Tekt1 (اسپرماتوسیت و اسپرماتید) پس از هشت هفته کشت به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است و سلول‌های اسپرماتوگونی توانستند تکثیر یافته و روند تمایزی را آغاز کنند. اما قادر به تولید اسپرماتوزوآ نبودند. بروئی و همکاران داربست‌های نانوفیبری از آلبومین و ژلاتین تولید کرده و سلول‌های مشتق از بیوپسی بیضه را بر روی آن کشت دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که داربست‌های تولید شده زیست سازگار بوده و تاثیر سوئی را بر بقای سلول‌ها نداشته و از رشد و تکثیر آن‌ها حمایت می‌کند (۶۴،۶۵). اخیراً، فاکتورهای رشد به داربست‌های بیولوژیکی یا سنتزی کونژوگه می‌گردد و موجب می‌شود که سلول‌هایی که در تماس با داربست هستند بتوانند از فاکتورها استفاده کنند. لذا سیگنال-های موضعی برای تنظیم سرنوشت سلول‌ها را فراهم می‌کنند (۶۶). استفاده از این نوع داربست‌ها برای القای تمایز در سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی می‌تواند مدنظر قرارگیرد.

نتیجه‌گیری

کشت سه بعدی با استفاده از داربست‌ها و سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی می‌تواند منجر به القا اسپرماتوژنز آزمایشگاهی گردد. هم‌چنین داربست‌های بیضه‌ای سلول‌زدایی شده و زیست سازگار، این پتانسیل را دارند که به‌عنوان یک ابزار برای مطالعه روند اسپرماتوژنز مورد استفاده قرارگیرند. حال آنکه در مسیر تولید اسپرم بارور برای درمان ناباوری چالش‌های تکنیکی و اخلاقی وجود دارد که نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

تعارض در منافع : وجود ندارد.

References:

1-Oatley JM, Reeves JJ, McLean DJ. ***Biological Activity of Cryopreserved Bovine Spermatogonial Stem Cells During in Vitro Culture***. Biol Reprod 2004; 71(3): 942-7.

2-Kanatsu-Shinohara M, Shinohara T. ***Spermatogonial Stem Cell Self-Renewal and Development***. Annu Rev Cell Dev Biol 2013; 29: 163-87.

3- Kojima Y, Kominami K, Dohmae K, Nonomura N, Miki T, Okuyama A, et al. ***Cessation of Spermatogenesis in Juvenile Spermatogonia***. Int J Urol 1997; 4(5): 500-7.

4- Huleihel M, AbuElhija M, Lunenfeld E. ***In Vitro Culture of Testicular Germ Cells: Regulatory Factors and Limitations.*** Growth Factors 2007; 25(4): 236-52.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

5-Clermont Y. ***Renewal Spermatogenesis in Man***. Am J Anat 1996;118(2): 509-24.

6-Ehmcke J, Wistuba J, Schlatt S. ***Spermatogonial Stem Cells: Questions, Models and Perspectives***. Hum Reprod Update 2006; 12(3): 275-82.

7- Ramaswamy S, Marshall GR, McNeilly AS et al. ***Dynamics of the Fol-Licle-Stimulating Hormone (FSH)-Inhibin B Feedback Loop and Its Rolein Regulating Spermatogenesis in the Adult Male Rhesus Monkey(Macaca Mulatta) as Revealed by Unilateral Orchidectomy***. Endocrinology 2000; 141: 18-27.

8-Phillips BT, Gassei K, Orwig KE. ***Spermatogonial Stem Cell Regulation and Spermatogenesis.*** Philos Trans R Soc Lond B: Biol Sci 2010; 365 (1546): 1663-78.

9-Huckins C, Oakberg E. ***Morphological and Quantitative Analysis of Spermatogonia in Mouse Testes Using whole Mounted Seminiferous Tubules. II. The irradiated testes.*** The Anat Rec 1978; 192(4): 529-41.

10-Phillips BT, Gassei K ,Orwig KE. ***Spermatogonial Stem Cells and Spermatogenesis***. Phy of Reprod 2010; 365: 1663-78.

11-Sofikitis N, Pappas E, Kawatani A et al. ***Efforts to Create an Artificial Testis: Culture Systems of Male Germ Cells Under Biochemical Conditions Resembling the Seminiferous Tubular Biochemical Environment.*** Hum Reprod Update 2005; 11(3): 229-59.

12-Kierszenbaum AL. ***Mammalian Spermatogenesis in Vivo and in Vitro: A Partnership of Spermatogenic and Somatic Cell Lineages***. Endocr Rev 1994; 15: 116-34.

13-Lee JH, Kim HJ, Kim H, Lee SJ, Gye MC. ***In Vitro Spermatogenesis by Threedimensional Culture of Rat Testicular Cells in Collagen Gel Matrix.*** Biomaterials 2006; 27(14): 2845-53.

14-Rooij DG, Russell LD. ***All You Wanted to Know about Spermatogonia but Were Afraid to Ask***. J Androl 2000; 21(6): 776-98.

15-He Z, Kokkinaki M, Dym M. ***Signaling Molecules and Pathways Regulating the Fate of Spermatogonial Stem Cells***. Microsc Res Tech 2009; 72(8): 586-95

16-Mahmoud H. ***Concise Review: Spermatogenesis in an Artificial Three-Dimensional System***. Stem Cells 2012; 30(11): 2355-60.

17-Meachem S, Schonfeldt V, Schlatt S. ***Spermatogonia: Stem Cells with a Great Perspective***. Reproduction 2001;121(6): 825-34

18-Ogawa T. ***Spermatogonial Transplantation: The Principle and Possible Applications***. J Mol Med 2001; 79: 368-74.

19-Creemers LB, Ouden K, van Pelt AMM, Rooij DG. ***Maintenance of Adult Mouse Type a Spermatogonia in Vitro: Influence of Serum and Growth Factors and Comparison with Prepubertal Spermatogonial Cell Culture.*** Reproduction 2002; 124(6): 791-99.

20-Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. ***Growth Factors Essential for Self-Renewal and Expansion of Mouse Spermatogonial Stem Cells***. Proc Natl Acad Sci 2004; 101(47): 16489-94.

21-Naughton CK, Jain S, Strickland AM, Gupta A, Milbrandt J. ***Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor-Mediated RET Signaling Regulates***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

Spermatogonial Stem Cell Fate. Biol Reprod 2006; 74(2): 314-21.

22-Meng X, Lindahl M, Hyvönen ME, Parvinen M, de Rooij DG, Hess MW, et al**. *Regulation of Cell Fate Decision of Undifferentiated Spermatogonia by GDNF*.** Sci 2000; 287(5457): 1489-93.

23-Nagano M, Avarbock MR, Leonida EB, Brinster CJ, Brinster RL. ***Culture of Mouse Spermatogonial Stem Cells***. Tissue Cell 1998; 30(4): 389-97.

24- Mirzapour T, Movahedin M, Tengku Ibrahim TA, Haron AW, Nowroozi MR. ***Evaluation of the Effects of Cryopreservation on Viability, Proliferation and Colony Formation of Human Spermatogonial Stem Cells in Vitro Culture***. Andrologia 2013; 45(1): 26-34.

25-Rassoulzadegan M, Paquis-Flucklinger V, Bertino B, Sage J, Jasin M, Miyagawa K, et al. ***Transmeiotic Differentiation of Male Germ Cells in Culture***. Cell 1993; 75(5): 997-1006.

26-Khajavi N, Akbari M, Abolhassani F, Dehpour AR, Koruji M, Roudkenar MH. ***Role of Somatic Testicular Cells During Mouse Spermatogenesis in Three-Dimensional Collagen Gel Culture System***. Cell J 2014; 16(1): 79-90.

27-Steinberger A, Steinberger E, Perloff WH. ***Mammalian Testes in Organculture***. Exp Cell Res 1964; 36(1): 19-27.

28-C Boitani, MG Politi, T Menna. ***Spermatogonial Cell Proliferation in Organ Culture of Immature Rat Testis***. Biology of Reproduction 1993; 48(4): 761-67.

29- Ogawa T. ***in Vitro Spermatogenesis: The Dawn of a New Era in Thestudy of Male Infertility***. Int J Urol 2012; 19(4): 282-83.

30-Sato T, Katagiri K, Gohbara A, Inoue K, Ogonuki N, Ogura A, et al. ***in Vitro Production of Functional Sperm in Cultured Neonatal Mouse Testes***. Nature 2011; 471(7339): 504.

31-Alrahel A, Movahedin M, Mazaheri Z, Amidi F. ***Study of Tnp1, Tekt1, and Plzf Genes Expression During an in Vitro Three-Dimensional Neonatal Male Mice Testis Culture***. Iran Biomed J 2018; 22(4): 258-63.

32-Brinster RL, Zimmermann JW. ***Spermatogenesis Following Male Germ-Cell Transplantation***. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91(24): 11298-302.

33- Absalan F, Movahedin M, Mowla SJ. ***Spermatogonial Stem Cell Transplantation and Subsequent Orchidopexy in the Bilateral Cryptorchid Mouse Model***. Cell J 2011; 13(3): 143-48.

34-Koruji M, Movahedin M, Mowla SJ, Gourabi H, Pour-Beiranvand S, Arfaee AJ. ***Autologous Transplantation of Adult Mice Spermatogonial Stem Cells into Gamma Irradiated Testes***. Cell J 2012; 14(2): 82-9.

35-Hermann BP, Sukhwani M, Winkler F, Pascarella JN, Peters KA, Sheng Y, et al. ***Spermatogonial Stem Cell Transplantation into Rhesus Testes Regenerates Spermatogenesis Producing Functional Sperm***. Cell Stem Cell 2012; 11(5): 715-26.

36-Brook PF, Radford JA, Shalet SM, Joyce AD, Gosden RG. ***Isolation of Germ Cells from Human Testicular Tissue for Low Temperature Storage and Autotransplantation***. Fertil and steril 2001; 75(2): 269-74.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

37- Mohaqiq M, Movahedin M, Mazaheri Z, Amirjannati N**. *Successful Human Spermatogonial Stem Cells Homing in Recipient Mouse Testis after in Vitro Transplantation and Organ Culture***. Cell J 2019; 20(4): 513-20.

38- Mohaqiq M, Movahedin M, Mazaheri Z, Amirjannati N. ***In Vitro Transplantation of Spermatogonial Stem Cells Isolated from Human Frozen-Thawed Testis Tissue Can Induce Spermatogenesis Under 3-Dimensional Tissue Culture Conditions***. Biol Res 2019; 52(1): 16.

39- Kikuchi K, Nakai M, Kashiwazaki N, Kaneko H. ***Xenografting of Gonadal Tissues into Mice as a Possible Method for Conservation and Utilization of Porcine Genetic Resources.*** Anim Sci J 2011; 82(4): 495-503.

40- Jahnukainen K, Ehmcke J, Hou M, Schlatt S. ***Testicular Function and Fertility Preservation in Male Cancer Patients.*** Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2011; 25(2): 287-302

41- Aslam I, Fishel S. ***Short-Term in-Vitro Culture and Cryopreservation of Spermatogenic Cells Used for Human in-Vitro Conception***. Hum Reprod 1998; 13(3): 634-38.

42- Tesarik J, Greco E, Rienzi L, Ubaldi F, Guido M, Cohen-Bacrie P, Mendoza C. ***Differentiation of Spermatogenic Cells During in-Vitro Culture of Testicular Biopsy Samples from Patients with Obstructive Azoospermia Effect of Recombinant Follicle Stimulating Hormone.*** Hum Reprod 1998; 13(10): 2772-81.

43- Tanaka A, Nagayoshi M, Awata S, Mawatari Y, Tanaka I, Kusunoki H. ***Completion of Meiosis in Human Primary Spermatocytes Through in Vitro Coculture with Vero Cells***. Fertil Steril 2003; 79(1): 795-801.

44- Stukenborg J-B, Schlatt S, Simoni M, Yeung C-H, Elhija MA, Luetjens CM, et al. ***New Horizons for in Vitro Spermatogenesis? an Update on Novel Three-Dimensional Culture Systems as Tools for Meiotic and Post-Meiotic Differentiation of Testicular Germ Cells.*** Mol Hum Reprod 2009; 15(9): 521-29.

45- Parent-Massin D. ***Relevance of Clonogenic Assays in Hematotoxicology***. Cell Biol Toxicol 2001; 17: 87-94

46- Hofmann MC, Narisawa S, Hess RA, Millán JL. ***Immortalization of Germ Cells and Somatic Testicular Cells Using the SV40 Large T Antigen***. Exp Cell Res 1992; 201(2): 417-35.

47- JH Lee, MC Gye, KW Choi, JY Hong, YB Lee. ***In Vitro Differentiation of Germ Cells from Nonobstructive Azoospermic Patients Using Three-Dimensional Culture in a Collagen Gel Matrix***. Fertil Steril 2007; 84(7): 824-33.

48- Stukenborg JB, Wistuba J, Luetjens CM et al. Elhija MA, Huleihel M, Lunenfeld E, et al. ***Coculture of Spermatogonia with Somatic Cells in a Novel Three-Dimensional Soft-Agar-Culture System***. J Androl 2008; 29(3): 312-29.

49- Morena AR, Boitani C, Pesce M, De Felici M, Stefanini M. ***Isolation of Highly Purified Type a Spermatogonia from Prepubertal Rat Testis***. J Androl 1996; 17(6): 708-17.

50- Pariente J-L, Kim B-S, Atala A. ***In Vitro Biocompatibility Evaluation of Naturally Derived and Synthetic Biomaterials Using Normal Human Bladder Smooth Muscle Cells***. J Urol 2002; 167(4): 1867-71.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

51-Pariente JL, Kim BS, Atala A. ***In Vitro Biocompatibility Assessment of Naturally Derived and Synthetic Biomaterials Using Normal Human Urothelial Cells***. J Biomed Mater Res 2001; 55 (1): 33-9.

52-O'brien FJ. ***Biomaterials & Scaffolds for Tissue Engineering***. Mater Today 2011; 14(3): 88-95.

53-Lee CH, Singla A, Lee Y. ***Biomedical Applications of Collagen***. Int J Pharm 2001; 221(1-2): 1-22.

54-Lee DR, Kaproth MT, Parks JE. ***In Vitro Production of Haploid Germ Cells from Fresh or Frozen-Thawed Testicular Cells of Neonatal Bulls.*** Biol Reprod 2001; 65(3): 873-78

55-Laurie G, Leblond C, Martin G. ***Localization of Type IV Collagen, Laminin, Heparan Sulfate Proteoglycan, and Fibronectin to the Basal Lamina of Basement Membranes***. J Cell Biol 1982; 95(1): 340-4.

56-Ungefroren H, Ergün S, Krull NB, Holstein AF. ***Expression of the Small Proteoglycans Biglycan and Decorin in the Adult Human Testis.*** Biol of Reprod 1995; 52(5): 1095-105.

57-Gulkesen K, Erdogru T, Sargin CF, Karpuzoglu G. ***Expression of Extracellular Matrix Proteins and Vimentin in Testes of Azoospermic Man: An Immunohistochemical and Morphometric Study***. Asian J Androl 2002; 4(1): 55-60.

58-Siu MK, Cheng CY. ***Dynamic Cross Talk Between Cells and the Extracellular Matrix in the Testis***. Bioessays 2004; 26 (9): 978-92.

59-Brown BN, Badylak SF. ***Extracellular Matrix as an Inductive Scaffold for Functional Tissue Reconstruction.*** Translat Res 2014; 163(4): 268-85.

60-Baert Y, Stukenborg J-B, Landreh M, De Kock J, Jörnvall H, Söder O, et al. ***Derivation and Characterization of a Cytocompatible Scaffold from Human Testis***. Hum Reprod 2015; 30(2): 256-67.

61-Baert Y, Rombaut C, Goossens E. ***Scaffold-Based and Scaffold-Free Testicular Organoids from Primary Human Testicular Cells***. Methods Mol Biol 2017; 1576: 283-90.

62-Vermeulen M, Vento F, Michele F, Poels J, Wyns C. ***Development of a Cytocompatible Scaffold from Pig Immature Testicular Tissue Allowing Human Sertoli Cell Attachment, Proliferation and Functionality.*** Int J Mol Sci 2018; 19(1): 227.

63-Majidi Gharenaz N, Movahedin M, Mazaheri Z. ***Three-Dimensional Culture of Mouse Spermatogonial Stem Cells Using a Decellularised Testicular Scaffold***. Cell J 2020; 21(4): 410-18..

64-Borzouie Z, Naghibzadeh M, Talebi AR, Pourrajab F, Jebali A, Nikukar H, et al. ***Development of an Artificial Male Germ Cell Niche Using Electrospun Poly Vinyl Alcohol/Human Serum Albumin/Gelatin Fibers***. Cell J 2019; 21(3): 300-6.

65-Borzouie Z, Hekmatimoghaddam S, Jebali A, Aflatoonian B. ***The Viability of Human Testis Derived Cells on a Human Serum Albumin-Based Scaffold as an Artificial Male Germ Cell Niche***. Int J Fertil Steril 2020: 14(2): 150-53.

66-Lee K, Silva EA, Mooney DJ. ***Growth Factor Delivery-Based Tissue Engineering: General Approaches and a Review of Recent Developments***. J R Soc Interface 2011; 8 (55): 153-70.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 28| NO 7 | Oct 2020

Received: 27 Oct 2019
Accepted: 8 Feb 2020

A Review on Application of Three Dimensional Culture and Testicular Scaffolds to Induction of in-Vitro Spermatogenesis

Nasrin Majidi Gharenaz[1], Mansoureh Movahedin[†2], Samiyeh Majidi[3], Zohreh Mazaheri[4]

Review Article

Introduction: Induction of in vitro spermatogenesis can be useful for infertility treatment in azoospermic patients and those undergoing chemotherapy. Different culture systems have been used to achieve this goal. This review study was performed with the aim to evaluate the application of 3D culture and testicular scaffolds in the establishment of in vitro spermatogenesis.

In this review study, the information on the application of 3D culture and testicular scaffolds in induction of in vitro spermatogenesis was searched in databases such as SID, Magiran, PubMed, Irandoc, Iranmedx Scopus, Google Scholar, Web of Science using the keywords of three dimensional culture, testicular scaffold, spermatogenesis, spermatogonial stem cells without time limitation. Data analysis was carried out qualitatively. Finally, 35 papers in English and Persian were used to compile the article.

In order to induce of in vitro spermatogenesis, three-dimensional culture methods such as testicular tissue culture, soft agar culture system, natural biomaterial scaffolds such as collagen, and scaffolds derived from decellularized testis have been used.

Conclusion: Three-dimensional culture using spermatogonial stem cells and scaffolds can be used in vitro for induction of spermatogenesis, but there are further technical and ethical challenges in the path of fertile sperm production for the treatment of infertility.

Keywords: Spermatogenesis, Scaffold, Testis, Cell culture

Citation: Majidi Gharenaz N, Movahedin M, Majidi S, Mazaheri Z. **A Review on Application of Three Dimensional culture and Testicular Scaffolds to Establishment of in Vitro Spermatogenesis.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(7): 2794-2805.

[1],[2]Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

[3]School of Nursing and Midwifery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[4]Basic Medical Science Research Center, Histogenotech Company, Tehran, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 09123201136**, email:** movahed.m@modares.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i7.4264]