

مروری بر ارتباط ژن PLC با پارامترهای اسپرم و تخمک در درمان ناباروری با فن آوری های کمک باروری

فاطمه مهربانی^۱، محمدابراهیم پارسا نژاد^{۲*}، مهرداد شریعتی^۳، محمدامین عدالت منش^۱

مقاله مروری

مقدمه: با افزایش جمعیت جهان بروز ناباروری در حال افزایش است و در حال حاضر ناباروری ۸ تا ۱۲ درصد از زوج ها در سراسر جهان را تحت تاثیر قرار می دهد. فن آوری کمک باروری (ART) مانند لقاح آزمایشگاهی (IVF) و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) انقلابی در زمینه پزشکی باروری ایجاد کرده است و به طور مستمر تلاش می کند تا دسترسی بیماران نابارور را به درمان های مناسب و کارآمد افزایش دهد. با این حال، برخی از علل منجر به کاهش نرخ کلی لقاح در ART می شود. فسفولیپاز C زتا (PLC) فاکتور اصلی مختص اسپرم است که مسئول فعال سازی تخمک (OA) است. از این رو ناهنجاری های PLC شامل بیان کم و عدم بیان آن و همچنین جهش های ایجاد شده در آن به عنوان یکی از عوامل کاهش نرخ لقاح ناشی از نقص فعال سازی تخمک و ناهنجاری هایی در پارامترهای اسپرم و شکست سیکل های IVF و ICSI مطرح شده است. هدف از این مطالعه، مروری بر آخرین اطلاعات PLC است که در پایگاه های Web of Science، اسکوپوس، ساینس دایرکت و پاب مد منتشر شده و منجر به شکست IVF و ICSI و شکست مکرر ICSI و IVF شده است. به علاوه مطالعات انجام شده در مدل های حیوانی بر روی ژن PLC و پروتئین کد کننده آن گزارش شده است.

نتیجه گیری: مطالعات نشان می دهند که تغییر بیان PLC و جهش های ایجاد شده در آن می تواند سبب کاهش نرخ لقاح ناشی از نقص فعال سازی تخمک و ناهنجاری هایی در پارامترهای اسپرم و شکست در ART شود.

واژه های کلیدی: ناباروری، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، لقاح آزمایشگاهی

ارجاع: مهربانی فاطمه، پارسا نژاد محمدابراهیم، شریعتی مهرداد، عدالت منش محمدامین. مروری بر ارتباط ژن PLC با پارامترهای اسپرم و تخمک در درمان ناباروری با فن آوری های کمک باروری. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۱۲): ۶۲-۶۱۴۷.

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۲- گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۳- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۷۱۱۷۰۶۸۳، پست الکترونیکی: parsameb@gmail.com، صندوق پستی: ۷۱۸۶۷۶۴۹۵۱

مقدمه

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی (WHO)، عدم موفقیت در بارداری علی‌رغم حداقل یک سال رابطه جنسی منظم و محافظت نشده اصطلاحاً "ناباروری" گفته می‌شود (۱). به‌طور خلاصه، تخمین زده می‌شود که ناباروری بین ۸ تا ۱۲ درصد از زوج‌های در سن باروری در سراسر جهان را تحت تاثیر قرار دهد که اکثریت آن‌ها ساکن کشورهای در حال توسعه هستند (۲،۳). دلایل ناباروری می‌تواند مردانه، زنانه یا ترکیبی از هر دو باشد و شامل اختلالات تخمک‌گذاری، بیماری درگیر کننده لوله‌های تخم‌بر، آندومتریوز، ناهنجاری‌های کروموزومی، فاکتورهای اسپرم و ناباروری با علل ناشناخته باشد. معمولاً زوج‌های جوان و سالم در طایفه دوره تخمک‌گذاری (یک ماه) تنها ۲۰٪ شانس بارداری دارند. اکثر موارد ناباروری، چه عوامل زنانه و چه مردانه، از طریق درمان ناباروری و بعضاً جراحی برطرف می‌شوند (۴).

استراتژی تحقیق: آخرین مقالاتی که در پایگاه‌های Web of Science، اسکوپوس، ساینس دایرکت و پابمد منتشر شده‌اند در این مطالعه استفاده شد. واژه‌هایی مانند PLC، ناباروری، پارامترهای اسپرم و تخمک، ناباروری با علل مردانه و زنانه درمان ناباروری و فن‌آوری‌های کمک باروری برای یافتن مقالات استفاده شد.

ناباروری با علل زنانه: مشکلات ناباروری زنان ۵۰٪ از مشکلات ناباروری را به خود اختصاص داده است که ۲۵٪ آن به اختلالات عدم تخمک‌گذاری و ۲۵٪ درصد به مشکلات دیگر مربوط می‌شود. ناباروری بیشتر به عنوان اولیه یا ثانویه طبقه‌بندی می‌شود. ناباروری ثانویه زنان در مورد زنان ناباوری هستند اما که قبلاً حاملگی داشتند (۵). ناباروری ثانویه شایع‌ترین شکل ناباروری زنان در سراسر جهان است (۶،۷). ناباروری ثانویه در مناطقی از جهان با نرخ بالای سقط جنین و مراقبت‌های ضعیف زایمان که منجر به عفونت‌های پس از سقط جنین و پس از زایمان می‌شود، شایع‌تر است (۲). در حالیکه قوی‌ترین عامل منفی پیش‌بینی کننده باروری افزایش سن زنان در زمان لقاح است، نارسایی زودرس تخمدان، سندرم تخمدان

پلی کیستیک، آندومتریوز، فیبروز رحم و پولیپ آندومتر یا از مهم‌ترین بیماری‌های مرتبط با ناباروری در زنان محسوب می‌شود (۸).

ناباروری با علل مردانه: فاکتورهای مردانه ناشی از ناهنجاری‌های سیمین و یا کیفیت اسپرم مانند الیگواسپرمی، تراتواسپرمی یا تراترواسپرمیا (اشکالات ساختاری)، آستنواسپرمی (تحرک کم اسپرم) و آزواسپرمی ۲۵ تا ۳۰ درصد موارد ناباروری را شامل می‌شود. اختلال عملکرد جنسی در مردان اغلب در سنین باروری رخ می‌دهد و در برخی موارد باعث ناباروری می‌شود. در مردان نابارور، میل جنسی کم و عدم رضایت جنسی شایع‌ترین نوع اختلال عملکرد جنسی است که از ۸/۹ تا ۶۸/۷ درصد متغیر است. اختلال نعوظ و یا انزال زودرس، که با ابزارهای معتبر ارزیابی شده است، شیوع یک نفر از هر شش مرد نابارور و اختلال ارگاسمیک از هر ده مرد نابارور یک نفر است. علاوه بر این، مردان نابارور می‌توانند بار روانی سنگینی را تجربه کنند. ناباروری و نگرانی‌های روانی مرتبط با آن می‌تواند زمینه‌ساز اختلال عملکرد جنسی باشد. علاوه بر این، اختلالات سلامت عمومی مانند اختلالات قلبی عروقی زمینه‌ای و بیماری‌های سرطانی می‌تواند به ناباروری مردان و یا اختلال عملکرد جنسی منجر شود. این مفهوم که اختلال نعوظ در مردان نابارور ممکن است نشانگر اولیه سلامت عمومی ضعیف باشد در حال ظهور است (۴). در نهایت، داروهایی که برای مشکلات سلامت عمومی استفاده می‌شوند می‌توانند باعث ناهنجاری‌های اسپرم و اختلال عملکرد جنسی شوند. درمان برخی از علل ناباروری مردان ممکن است کیفیت مایع منی را بهبود بخشد و اختلال عملکرد جنسی مرتبط با ناباروری را معکوس کند. در مردان نابارور، بررسی وضعیت سلامت جنسی، عمومی و روانی برای بهبود مشکلات باروری و سلامت عمومی توصیه می‌شود (۹). علاوه بر موارد مطرح شده هیپوگنادیسم (هیپوگنادوتروپیک)، افزایش پرولاکتین خون، نقص در عملکرد مژک‌ها، کیست‌های فیبروزه، عفونت و بیماری‌های سیستمیک در زنان و مردان از مهم‌ترین بیماری‌های مرتبط با ناباروری تلقی می‌شود (۸).

جدید پیچیدگی زیادی را به روش‌های بالینی و آزمایشگاهی در چهار دهه گذشته اضافه کرده است. ترجمه رویکردهای جدید از علوم پایه به عمل بالینی بدون وقفه ادامه دارد، کاربرد ART را برای گروه‌های جدیدی از افراد گسترش می‌دهد و به بهبود شانس تولد زنده سالم و پذیرش بیمار کمک می‌کند. با این حال، تأثیر ART بر سلامت بیماران و فرزندان آن‌ها همچنان باعث نگرانی می‌شود و بسیاری از چالش‌های اخلاقی ایجاد شده توسط پیشرفت‌های علمی جدید در این زمینه نظرات متفاوتی را به خود جلب می‌کند. آنچه غیرقابل انکار است این است که رشد جهانی پایداری در استفاده از ART وجود خواهد داشت و گردشگری تولید مثل به بسیاری از مردم این امکان را می‌دهد که علیرغم مقررات ملی که ممکن است برخی رویکردها را منع کند، به درمان مورد نظر خود دسترسی داشته باشند تقاضای فزاینده‌ای برای IVF از سوی زوج‌های بارور سالم وجود دارد که می‌خواهند از انتقال بیماری‌های ژنتیکی جلوگیری کنند. این امر با ترکیبی از در دسترس بودن گسترده غربالگری قبل از بارداری (PCS)، افزایش گسترده در تعداد بیماری‌های ژنتیکی قابل شناسایی شناخته شده و کاهش هزینه‌های مرتبط با توالی ژنوم انسانی تحریک شده است. PCS تشخیص وضعیت حامل را قادر می‌سازد (۱۱). در مواردی که نقصی در پارامترهای اسپرم وجود داشته باشد که از نفوذ اسپرم و باروری تخمک جلوگیری کند، از روش ICSI استفاده می‌شود. برای ICSI، سلول اسپرم مستقیماً به سیتوپلاسم تخمک تزریق می‌شود (۱۲).

تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI): تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) گزینه نهایی برای مواردی است که ناباروری شدید مردانه وجود دارد که شامل میکرو تزریق اسپرم به داخل تخمک بالغ می‌شود به متداول‌ترین روش لقاح در فن‌آوری کمک باروری (تقریباً دو سوم همه ARTها در دنیا) تبدیل شده است. این روش برای کاهش بروز شکست لقاح پیشنهاد شده است، زیرا مزیت دور زدن موانع مسئول در فرآیند لقاح را با منشأ اووسیتی یا اسپرماتوزویی ارائه می‌کند (۱۳). در موارد شدید ناباروری مردانه مانند آرواسپرمی انسدادی یا فقدان مادرزادی واژدفران، درمان ایده آل،

درمان ناباروری: فن‌آوری کمک باروری (ART) مانند لقاح آزمایشگاهی (IVF)، تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسمی (ICSI) و تلقیح داخل رحمی (IUI) به‌طور مداوم در حال تکامل برای پذیرش بیماران نابارور با درمان‌های مناسب است (۴).

لقاح آزمایشگاهی: در ابتدا IVF صرفاً برای بیماران مبتلا به ناباروری فاکتور لوله رحمی، در نظر گرفته می‌شد زیرا این امکان را برای اسپرم و تخمک‌ها فراهم می‌کرد که در مجاورت بدن بمانند و در خارج از بدن انسان بارور شوند. با این حال، IVF به سرعت به عنوان یک گزینه درمانی برای بیماران مبتلا به ناباروری شدید فاکتور مردانه، اختلال عملکرد تخمک‌گذاری، آندومتریوز، بیماری تخمدان پلی‌کیستیک و ناباروری با علل ناشناخته نیز به کار گرفته شد. از زمان تولد اولین کودک IVF در سال ۱۹۷۸، میلیون‌ها نوزاد در نتیجه لقاح آزمایشگاهی متولد شده‌اند. در طی هر چرخه قاعدگی، تخمدان‌های انسان برای بلوغ و تخمک‌گذاری یک تخمک منفرد طراحی شده‌اند. با این حال، در طول درمان ناباروری با استفاده از ART، چندین فولیکول معمولاً استفاده می‌شود و چندین تخمک تشکیل می‌گردد. روند IVF شامل تحریک کنترل شده تخمدان، بازیابی تخمک از تخمدان‌های زن و تلقیح آن‌ها با اسپرم در محیط کشت است. تخمک‌های تلقیح شده بررسی می‌شوند و تخمک‌های بارور شده به‌طور معمول دو تا پنج روز دیگر قبل از انتقال به رحم بیمار در محیط کشت نگهداری می‌شوند تا بارداری موفقیت‌آمیزی برقرار شود. تنوع در کیفیت و میزان بلوغ تخمک‌های انسانی و تکوین رویان‌ها احتمالاً بخشی از فرآیند انتخاب طبیعی است. زیرا تعداد زیادی تخمک تشکیل می‌شود، اما فقط تعداد کمی از آن‌ها می‌توانند به یک جنین زنده تبدیل گردند. با این حال، درک عوامل تعیین کننده کیفیت تخمک بسیار مهم است زیرا به شما کمک می‌کند تا رویان‌های با قابلیت زنده‌مانی بیشتر و با قابلیت لانه‌گزینی بالا به منظور دستیابی به یک بارداری تکی و جلوگیری از چندقلوایی دست یابید (۱۰). تاکنون بیش از ۸ میلیون نوزاد به دنبال روش لقاح آزمایشگاهی (IVF) و سایر روش‌های فن‌آوری تولید مثل مصنوعی (ART) متولد شده‌اند. نوآوری‌های

ناهنجاری های کروموزومی، ناباروری، سرطان، تاخیر در رشد روانی و عصبی و اختلال در پروفایل قلبی متابولیک در نوزادانی که در نتیجه ICSI متولد می‌شوند بیشتر از کودکانی که به‌طور طبیعی باردار شده‌اند مشاهده شده است. با این حال، از آنجایی که ناباروری احتمالاً بر برآوردهای خطر تأثیر می‌گذارد، باید مشخص شود که پیامدهای نامطلوب مشاهده شده تا چه حد به عوامل والدین یا با ICSI مرتبط هستند (۱۵-۱۳).

فسفولیپازها و اثرات آن بر فاکتورهای زنانه و مردانه در فن‌آوری تولید مثل: فسفولیپاز C زتا اختصاصی اسپرم (PLC ζ) مسئول Ca^{2+} oscillations سیگنال‌های موجود در همه سلول‌ها هستند که ابزار کارآمدی را برای انتقال اطلاعات بیولوژیکی درون سلولی فراهم می‌کنند و فعال شدن تخمک و تکامل اولیه رویان در طی فرایند لقاح است. این پروتئین توسط ژن PLC ζ 1 واقع در کروموزوم ۱۲ (p12.3.۱۲) کدگذاری می‌شود و از پانزده آگزون در انسان تشکیل شده است (۸). PLC ζ به عنوان محرک فیزیولوژیکی در نظر گرفته می‌شود که فرآیند فعال‌سازی تخمک را القا می‌کند. در بیضه پستانداران بیان PLC ζ در اسپرماتوژنز متعاقب تمایز اسپرماتید رخ می‌دهد. PLC ζ کوچک‌ترین ایزوفرم فسفولیپاز C در پستانداران است. هر گونه ناهنجاری در ژن و یا پروتئین PLC ζ احتمالاً نقش کلیدی در شکست IVF/ICSI دارد (۱۷). PLC ζ پروتئینی مخصوص بیضه است که در سر اسپرم گونه‌های پستانداران و غیر پستانداران قرار دارد (۱۹، ۱۸).

محل PLC ζ در اسپرم پستانداران: PLC ζ در مناطق مشخصی از اسپرم در بسیاری از پستانداران قرار دارد، که احتمالاً منعکس کننده نقش‌های متفاوت برای این جمعیت‌های درون سلولی است (۲۳-۲۰). برای مثال PLC ζ در اسپرم انسان در نواحی اکروزومی، اکواتوریال و پست اکروزومی شناسایی شده است (۲۶-۲۴) در حالیکه در اسپرم موش، هامستر و گراز فقط در ناحیه اکروزومی و پست اکروزومی شناسایی شده است (۲۷). در اسپرم اسب در نواحی اکروزومی، اکواتوریال و قسمت میانی و قسمت ابتدایی تاژک (۲۸) و در خوک در ناحیه پست اکروزومی و دم شناسایی شده است (۲۹).

انجام ICSI است. دلایل اصلی محبوبیت آن ناشی از اثربخشی، استاندارد بودن این روش است، به این معنی که می‌توان آن را به راحتی در فعالیت‌های معمول مراکز باروری در سراسر جهان گنجاند، و این واقعیت که می‌توان از آن برای درمان تقریباً همه اشکال ناباروری استفاده کرد. ICSI روش انتخابی روشنی برای غلبه بر ناباروری با عامل مردانه شدید غیرقابل درمان است، اما استفاده (بیش از حد) آن در سایر سناریوهای ناباروری با عامل مردانه و غیرمردانه مبتنی بر شواهد نیست. علی‌رغم تمام تلاش‌ها برای افزایش کارایی و ایمنی ICSI از طریق استفاده از تکنیک‌های پیشرفته بازیابی و نگهداری اسپرم، و همچنین روش‌هایی برای انتخاب اسپرم با یکپارچگی کروماتین بهتر، نرخ کلی بارداری در مردان نابارور کمتر از حد مطلوب باقی می‌ماند. به نظر می‌رسد درمان عامل زمینه‌ای ناباروری مردانه قبل از ICSI راهی امیدوارکننده برای بهبود نتایج ICSI باشد، اما داده‌ها محدود هستند (۱۴). برای مردانی که به استحصال اسپرم از اپیدیدیم یا بیضه نیاز داشتند، IVF متداول منجر به لقاح بسیار ضعیف می‌شد. بنابراین، روش انتخابی موثر، ICSI است. علاوه بر این، ICSI برای زوجینی که بارها و بارها IVF ناموفق داشتند نیز انجام می‌شود. در بسیاری از مراکز ناباروری، بدون در نظر گرفتن کیفیت و منبع اسپرم، برای جلوگیری از لقاح ناموفق از روش ICSI استفاده می‌شود. با این حال، بسیاری از متخصصان ناباروری، از ICSI تنها برای شدیدترین موارد ناباروری مردان استفاده می‌کنند. کمیته تمرین انجمن پزشکی باروری آمریکا (ASRM) دستورالعمل‌هایی را در مورد ICSI منتشر کرده و آن را به عنوان یک روش بالینی استاندارد در نظر گرفته است که سال‌هاست از آن استفاده می‌شود. ICSI توانایی مردانی را که قبلاً نابارور قلمداد می‌شدند، به طرز چشمگیری افزایش داده است (۱۵). از زمان اولین گزارش‌های مربوط به حاملگی‌های موفق در انسان پس از درمان با تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسمی (ICSI)، توسعه فنی ICSI قابل توجه بوده است (۱۶). اطلاعات مربوط به سلامت فرزندان ICSI در ۲۵ سال گذشته جمع‌آوری شده است و دلایلی برای نگرانی وجود دارد زیرا خطرات ناهنجاری‌های مادرزادی، اختلالات ژنتیکی،

مجموع، داده‌های قبلی استفاده از PLCz را به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی برای پیش‌بینی OAD پیشنهاد کرده‌اند (۳۷-۳۹). در حال حاضر، تنها گزینه بالینی قابل دوام برای درمان OAD، فعال‌سازی مصنوعی تخمک (AOA) است. AOA شامل استفاده از محرک‌های مکانیکی، فیزیکی یا شیمیایی مختلف برای بازتولید مصنوعی آزادسازی Ca^{2+} است و در تحریک فعال‌سازی تخمک در انسان موفق بوده است. با این حال، AOA ممکن است به جای Ca^{2+} oscillations باعث افزایش یکنواخت Ca^{2+} در تخمک‌ها شود، و همچنین ممکن است منجر به آنوپلوئیدی در طول جنین‌زایی پستانداران شود (۳۳). بنابراین، توصیه می‌شود که درمان با AOA باید به بیماران نابارور با شواهد واضح OAD، به‌عنوان مثال، کمبود PLCz محدود شود (۴۰-۴۴).

جهش‌های PLCz منجر به عدم فعال‌سازی تخمک، برگشت نقص بارور **recurrent fertilization failure** و شکست IVF و ICSI: در مجموع ۲۱ جهش در ژن PLCZ1 مرتبط با شکست باروری پس از ICS شناسایی شده است (۴۵). دومین XY دومین مهم کاتالیتیک در PLCZ1 است و موتاسیون‌ها در این دومین احتمالاً بر روی عمل کاتالیتیک PLCZ1 اثر می‌گذارد (۲۹). دو جهش نقطه‌ای، (جایگزینی هیستیدین با لوسین در جایگاه ۲۳۳)، H398P و H233L (جایگزینی هیستیدین با پرولین در جایگاه ۳۹۸)، مشخص شده‌اند که بر عملکرد PLCz تأثیر می‌گذارند. این جهش‌ها که به ترتیب در اگزون‌های ۶ و ۱۱ قرار دارند، به ترتیب حوزه‌های عملکردی مهم X و Y را مختل می‌کنند و فعال‌سازی تخمک را مختل می‌کنند (۴۸-۴۶). نشان داده شده است که هر دو جهش منشا پدر و مادری دارند با این تفاوت که $PLCz^{H233L}$ از مادر و $PLCz^{H398P}$ از پدر به ارث می‌رسد. اگرچه شیوع هر دو جهش کمتر از ۱ در ۱۰۰ می‌باشد. Mu و همکاران در سال ۲۰۲۰، با استفاده از تعیین توالی کل اگزوم ۵ موتاسیون جدید در ژن PLCz گزارش کردند که شامل یک جهش هتروزیگوت نان سنس (p.Cys196) و چهار جهش هتروزیگوت میسنس (p.Arg412fs، p.Arg197His، p.Pro420Leu) و

PLCz و فعال‌سازی تخمک: فعال‌شدن تخمک یک رویداد اساسی در لقاح پستانداران است. در پستانداران، این فرآیند با یک سری نوسانات مشخصه کلسیم (Ca^{2+}) آغاز می‌شود که توسط PLCz القا می‌شود اختلال عملکرد/کاهش/حذف PLCz با اشکال ناباروری مردانه همراه است که در آن اسپرم قادر به شروع Ca^{2+} oscillations و فعال‌سازی تخمک نیست. در فناوری تولیدمثل قبل از لقاح، تخمک‌های بالغ در مرحله متافاز تقسیم میوز دوم متوقف می‌شوند، که باید کاهش یابد تا چرخه سلولی و جنین‌زایی بعدی ادامه یابد. این کاهش از طریق مجموعه‌ای از رویدادهای همزمان رخ می‌دهد که در مجموع "فعال‌سازی تخمک" نامیده می‌شود. در پستانداران، تخمک‌ها پس از لقاح به دنبال Ca^{2+} oscillations داخل سلولی (Ca^{2+}) فعال می‌شوند. نقص فعال‌سازی تخمک (OAD) می‌تواند ناشی از عوامل مرتبط با زن یا مرد است که نقش اساسی در شکست لقاح کامل (TFF) ایفا می‌کند و به جهش در ژن PLCz نسبت داده می‌شود و ناباروری عامل مردانه نامیده می‌شود به طوری که PLCz نو ترکیب به‌طور موثری نقص فعال‌شدن تخمک در ناباروری مردانه را بهبود بخشیده است (۳۰). PLCz شدیداً به مقادیر کلسیم پایه تخمک حساس است. شواهد اخیر حاکی از آن است که فسفولیپاز C اختصاصی اسپرم، PLCz به‌عنوان عامل مسئول متعاقب متصل شدن غشاء به تخمک معرفی کرده‌اند (۲۳). در حال حاضر شواهد علمی و بالینی قابل توجهی برای حمایت از نقش PLCz در تحریک انتشار Ca^{2+} و شروع فعال‌سازی تخمک وجود دارد (۱۸، ۱۹). میکرو تزریق عصاره‌های اسپرم حاوی PLCz به تخمک‌های موش باعث ایجاد Ca^{2+} oscillations مانند لقاح و فعال‌سازی تخمک می‌شود (۳۱، ۳۲). نشان داده شده است که تزریق PLCzRNA (۳۳) و PLCz نو ترکیب (۳۴) به تخمک‌های موش به‌طور موثر باعث آزادسازی Ca^{2+} می‌شود، که نشان‌دهنده اثر محرک PLCz در مراحل اولیه جنین‌زایی است. نقش حیاتی PLCz در فعال‌سازی تخمک با شواهدی که نشان می‌دهد مقدار غیرطبیعی کم PLCz یا کاهش فعالیت آن منجر به OAD می‌شود، بیشتر ثابت شده است (۳۵، ۳۶). در

کاهش یا عدم بیان PLC ζ در اسپرم بیماران و لوکالیزیشن غیرطبیعی PLC ζ توسط Escoffier و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش شد (۵۳). جهش H233L و R197H در دومین X منجر به کاهش یا عدم بیان PLC ζ در اسپرم بیماران و لوکالیزیشن غیرطبیعی PLC ζ و کاهش باروری توسط Ferrer-Vaque و همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش شده است (۵۴).

PLC ζ و فاکتورهای اسپرمی: کمبود کلسیم ناشی از PLC ζ به اشکال خاصی از ناباروری در مردان و حتی شاید ناباروری در زنان که با علت نقص در فعال شدن تخمک می‌باشد در ارتباط است. PLC ζ با پارامترهای منی، مورفولوژی اسپرم، و سن مرد مرتبط است (۵۷-۵۵). تصور می‌شود که بیان PLC ζ در اسپرم برای فعال‌سازی تخمک مهم است (۵۴). در واقع، شواهد در مورد اینکه چگونه سطوح PLC ζ و الگوهای لوکالیزیشن با نرخ لقاح در ICSI مرتبط است متناقض است (۳۷، ۳۸). از آنجایی که پتانسیل لقاح اسپرم به بیان PLC ζ بستگی دارد، می‌توان فرض کرد که درصد تکه تکه شدن DNA ممکن است بر سطوح بیان PLC ζ تأثیر بگذارد. اخیراً ارتباطی بین PLC ζ و وضعیت کروماتین اسپرم نشان داده شده است، به این معنی که درصد تکه تکه شدن DNA ممکن است مسئول AOD باشد (۵۵). با این وجود، تکه تکه شدن DNA اسپرم نشان داده شده است که دارای ارزش پیش‌بینی قوی برای جنین‌هایی است که به دنبال یک روش ICSI توسعه یافته‌اند (۵۸). میانگین بیان PLC ζ در اسپرم با تحرک اسپرم ارتباط دارد (۳۷)، هم‌چنین نشان داده شده است که به‌طور قابل توجهی نسبت بیان PLC ζ با تحرک، غلظت و مورفولوژی اسپرم در ارتباط است (۳۷، ۵۵). با این حال، Ferrer-Vaque و همکاران نشان داد که لوکالیزیشن PLC ζ با تحرک و غلظت اسپرم ارتباطی ندارد (۵۴). علاوه بر این، تجزیه و تحلیل معمول مایع منی همیشه با کیفیت عملکردی اسپرم مرتبط نیست و نمی‌توان از آن برای پیش‌بینی نتایج بارداری استفاده کرد (۵۹). این امکان وجود دارد که جمعیت آکروزومی PLCZ1 در لقاح نقش داشته باشد. با این حال، با توجه به زمان واکنش آکروزوم در رابطه با ترکیب اسپرم-اووسیت، تردیدهای قابل توجهی در

بود. که دو جهش p.Pro420Leu و p.Thr324fs (p.Arg197His منجر به کاهش بیان پروتئین PLC ζ و جهش p.Cys196* منجر به عدم بیان پروتئین PLC ζ و دو جهش دیگر منجر به غیرفعال شدن پروتئین PLC ζ می‌شود. جهش‌هایی دومین XY که منجر به کاهش بیان می‌شوند سبب ناپایداری پروتئین و اثر بر روی فعالیت کاتالیتیکی آن می‌شوند. در نهایت همه ۵ موتاسیون سبب کاهش فعال شدن تخمک می‌شوند (۴۵). Yan و همکاران در سال ۲۰۲۰ با مطالعه ۱۴ خانواده که از نقص فعال شدن تخمک ناشی از اسپرم رنج می‌بردند ۶ جهش جدید شامل p.C196، p.K448N و p.N377del، p.M578T، p.L277P، p.A384V گزارش کردند که همه جهش‌ها از پدر و مادر به ارث رسیده بود. موتاسیون لوسین به پرولین در موقعیت ۲۷۷ (L277P) سبب کاهش فعالیت آنزیمی PLCZ1 می‌شود. حذف Asn377 (N377del) سبب اختلال در ناحیه مرکزی دومین کاتالیتیک می‌شود در کل همه جهش‌ها در تثبیت ساختار کلی PLCZ1 انسانی شرکت می‌کنند و جهش‌ها احتمالاً پایداری پروتئین PLCZ1 انسانی را تضعیف می‌کند (۴۹). Dai و همکاران در سال ۲۰۲۰ سه جهش جدید در ژن PLC ζ شامل p.L246F، p.S350P و c. C736T منجر به کاهش باروری در بیماران دریافت‌کننده ICSI گزارش کردند. جهش p.L246F در دومین کاتالیتیک X و p.S350P در دومین کاتالیتیک Y واقع شده است. این محققین نشان دادند که تغییرات در این ژن سبب الگوهای لوکالیزیشن غیرطبیعی و عدم فعال شدن تخمک توسط اسپرم می‌شود (۵۰). Torra-Massana و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان دادند که برخی موتاسیون‌ها مانند p.R197H، p.H233L و p.V326K fs*25 در ژن PLC ζ سبب کاهش فعال شدن تخمک ناشی از کاهش فعالیت آنزیمی، عدم بیان PLC ζ در اسپرم و شکست ICSI می‌شود (۵۱). Yuan و همکاران در سال ۲۰۲۰ سه جهش جدید در ژن PLC ζ شامل S500L و L576P و P420L (منجر به کاهش باروری) و M578T منجر به عدم بیان PLC ζ در اسپرم و کاهش باروری گزارش کردند (۵۲). جهش I489F منجر به

گلوبوزواسپرمی و PLCZ1: گلوبوزواسپرمی یک حالت آسیب‌شناسی نادر است که در آن اسپرم فاقد آکروزوم است. بسیاری از بیماران در این مطالعات با گلوبوزواسپرمی تشخیص داده شدند. گلوبوزواسپرمی حدود ۱/۰٪ از مردان نابارور را تحت تاثیر قرار می‌دهد و با وجود ۱۰۰٪ اسپرم سرگرد فاقد آکروزوم مشخص می‌شود. هنوز مشخص نیست که آیا بیمارانی که انزال آن‌ها حاوی سلول‌های نرمال و گلوبوزواسپرمی (گلوبوزواسپرمی جزئی) است یا خیر، از یک نوع سندرم رنج می‌برند یا خیر. عدم وجود PLCZ1 را در هر دو اسپرم معمولی و سرگرد یک بیمار گلوبوزواسپرمی جزئی، مطابق با ناتوانی انواع سلول‌های اسپرم گلوبوزواسپرمی جزئی در فعال کردن تخمک موش گزارش شده است، گلوبوزواسپرمی یک سندرم ژنتیکی است. با این حال، نحوه خاص توارث همچنان نامشخص است اگرچه اخیراً گزارش شده است که به نظر می‌رسد یک جهش در ژن SPATA16 با انواع خاصی از گلوبوزواسپرمی در مردان مرتبط است و اسپرماتوزا بیماران مبتلا به گلوبوزواسپرمی از عدم وجود PLCZ1 و یا کاهش شدید آن رنج می‌برند (۶۱).

ترائوزواسپرمی و PLCZ1: ترائوزواسپرمی یک اختلال همراه با مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم است که بر باروری در مردان تأثیر می‌گذارد. مطالعات نشان داده‌اند که عوامل ایتولوژیک ترائوزواسپرمی شامل آنوپلوئیدی اسپرم، تکه تکه شدن DNA و آسیب‌های اکسیداتیو است. ولی مطالعه‌ای با هدف بررسی پارامترهای PLCZ1 در مردان ترائوزواسپرمی چند شکلی و مقایسه این پارامترها با مردان بارور نرموزواسپرمی انجام شده است. نمونه‌های سیمن سیزده مرد بارور نرموزواسپرمی و بیست و سه مرد ترائوزواسپرم پلی‌مورف در این مطالعه وارد شدند و با استفاده از وسترن بلات و آنالیز ایمونوفلورسانس مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. داده‌های این مطالعه بیانگر کاهش معنی‌دار PLCZ1 در مردان ترائوزواسپرمی پلی‌مورف در مقایسه با مردان کنترل بود (۶۲).

الیگواسپرم ترائوزواسپرمی و PLCZ1: ثابت شده است که الیگواسپرم ترائوزواسپرمی از شایع‌ترین علل ناباروری مردان است. اخیراً نقش PLCZ1 به عنوان یکی از عوامل احتمالی کاهش باروری در الیگواسپرم ترائوزواسپرمی اثبات شده است. به

مورد نقش عملکردی این جمعیت خاص PLCZ1 وجود دارد. علاوه بر این، گزارش‌ها یک تغییر بالقوه را در لوکالیزیشن PLCZ1 در ناحیه بعد از آکروزوم به دنبال ظرفیت نشان داده‌اند (۳۵). جالب توجه است، مطالعه دیگری این فرضیه را مطرح کرد که یک ایزوفرم کوتاه شده PLCZ1، که به طور غیرقابل توضیحی "NYD-SP7" نامیده می‌شود، در نواحی آکروزومی اسپرم موش و انسان قرار گرفته است و به عنوان یک فاکتور تخلیه عمل می‌کند (۵۸) با این حال، سردرگمی در مورد ماهیت و هدف دقیق این مطالعه وجود دارد زیرا NYD-SP7 فاقد ساختار دامنه ذاتی پروتئین PLCZ1 است، بنابراین آن را از نظر عملکردی غیرفعال می‌کند. برخی از محققان محل PLCZ1 را در دم اسپرم گزارش کرده‌اند. بررسی مطالعات فعلی به وضوح نشان می‌دهد که الگوهای مختلف لوکالیزیشن PLCZ1 در اسپرم گزارش شده است، اگرچه به نظر می‌رسد اکثر محققان موافق هستند که معتبرترین و قابل توجه‌ترین الگوی لوکالیزیشن PLCZ1 در منطقه اکواتوریال است. با این حال، مهم است که مطالعات آینده دلایل خاص برای لوکالیزیشن بالقوه PLCZ1 در دم اسپرم را شناسایی کنند (۶۰). PLCZ1 در مراحل اولیه اسپرماتوزن در بیضه بیان می‌شود. بنابراین، رویدادهایی که باعث آسیب یا تغییر اسپرماتوزن می‌شوند ممکن است به تغییرات بیان PLCZ1 در مراحل بعدی کمک کنند. اسپرم مردان ناباروری که به طور مداوم در لقاح تخمک‌ها به دنبال IVF یا ICSI معمول ناکام می‌ماند، یا در هنگام تزریق به تخمک‌های موش نوسانات Ca^{2+} ایجاد نمی‌کند الگوی موضعی PLCZ1 سر اسپرم غیر طبیعی دارند که نشان می‌دهد نقص در PLCZ1 اسپرم ممکن است زمینه‌ساز چنین مواردی از شکست باشد. جهش‌های متعددی در ژن PLCZ1 این بیماران سطح جهانی شناسایی شده است که منجر به از بین رفتن فعالیت PLCZ1 و/یا سطوح درون اسپرم می‌شود. ارتباط ژنتیکی بین PLCZ1 و ناباروری بر اساس شناسایی دو موتاسیون هتروزایگوت یکی در ناحیه دومین Y و یکی در دومین X از PLCZ1 بوده است (۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که هر دو موتاسیون در فولدینگ موضعی ناحیه فعال PLCZ1 را مختل می‌کند و سبب تغییر در اسیدهای آمینه کناری می‌شود (۲۶).

یافته‌های ما نشان می‌دهد که PLCZ ممکن است نقشی جهانی در فعال‌سازی تخمک‌ها در مهره‌داران داشته باشد. یک مطالعه نشان داده است که اسپرم مرغ حاوی PLCZ است و به‌طور جالبی یک پروموتور دو طرفه با ژن اختصاصی بیضه CAPZA3 دارد، همانطور که در مورد PLCZ پستانداران وجود دارد. CAPZA3 بدون اینترون است و بنابراین احتمالاً یک رتروژن است که حدس زده می‌شود که ظهور تکاملی PLCZ با درج ژنوم رتروپوزون CAPZA3 رخ داده است (۶۷).
اسب: Amoroso-Sanches و همکاران در سال ۲۰۱۸ اسپرم را از ۴ مورد ارزیابی قرار دادند. قبل از ارزیابی فلوسایتومتری، وسترن بلات و ایمونوفلورسانس برای تایید اتصال آنتی‌بادی و شناسایی PLCZ به عنوان یک پروتئین ۷۱ کیلو دالتونی در اسپرم اسب نر، واقع در ناحیه آکروزوم و پست آکروزوم و دم انجام گرفت و نتیجه گرفتند که PLCZ در جمعیت‌های اسپرم اسب نر یک شاخص ارزشمند برای موفقیت ICSI است و این پروتئین عامل مهمی برای فعال‌سازی تخمک و شروع رشد جنین پس از لقاح کمکی است (۶۸).

موش: نشان داده شده است که تزریق اسپرم بدون PLCZ از بیماران با سابقه شکست ICSI به تخمک‌های موش منجر به فقدان نوسانات Ca^{2+} و شکست فعال‌سازی تخمک می‌شود (۲۱). اسپرم‌های مشتق‌شده از موش‌های $Plcz1^{-/-}$ قادر به تحریک نوسانات Ca^{2+} در تخم‌ها نیستند، باعث پلی اسپرمی می‌شوند و بنابراین نشان می‌دهند که PLCZ محرک فیزیولوژیکی این نوسانات Ca^{2+} است. به‌طور قابل‌توجهی، برخی از تخمک‌های بارور شده توسط اسپرم فاقد PLCZ می‌توانند رشد کنند، البته با کارایی بسیار کاهش یافته، و پس از یک تاخیر زمانی قابل توجه، علاوه بر این، نرهای $Plcz1^{-/-}$ نابارور هستند اما عقیم نیستند، که نشان می‌دهد در غیاب PLCZ، فعال‌شدن خود به خود تخمک در نهایت می‌تواند از طریق یک مسیر جایگزین رخ دهد. این اولین اثباتی بود که نشان می‌دهد لقاح درون‌تنی بدون محرک فیزیولوژیکی طبیعی فعال‌شدن تخمک می‌تواند منجر به تولد فرزندان شود. اسپرم فاقد PLCZ اکنون این امکان را فراهم می‌کند که سوالات

عبارت دیگر مردان مبتلا به الیگوآستنوتراتوزوسپرمی نقص و تغییر در لوکالیزیشن PLCZ را نشان دادند (۶۳).

بیان PLCZ در اسپرم حیوانات

گاو: Ross و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که PLCZ برون‌زا را می‌توان برای فعال‌کردن جنین‌های حاصل از انتقال هسته‌ای سلول‌های سوماتیک گاوی استفاده کرد و از این فرضیه حمایت کرد که یک پاسخ فعال‌سازی شبه لقاح می‌تواند برخی از جنبه‌های برنامه‌ریزی مجدد هسته‌ای را افزایش دهد. برای اجتناب از استفاده از عصاره‌های بیولوژیکی پیچیده، استفاده از cRNA کدکننده PLCZ به عنوان یک راه حل مناسب ظاهر شد (۶۴). جنین‌های انتقال هسته سلول سوماتیک (SCNT) گاو فعال‌شده توسط میکروتزریق PLCZ1 cRNA نه تنها یک الگوی نوسانی مشابه Ca^{2+} ، بلکه در مقایسه با کنترل‌های IVF، نمایه بیان ژن مشابهی را نشان دادند (۶۵) علاوه بر این، نرخ‌های فعال‌سازی ICSI و پارتوژنتیک، و هم‌چنین رشد جنین، با تزریق PLCZ1 cRNA در تخم‌های انسان در مقایسه با فعال‌سازی با واسطه یونومایسین بهبود یافت (۶۴). نتایج مشابهی در مورد فراوانی بالای mRNA ژن $Plcz1$ در اسپرم نیز با باروری گاوهای نر هلشتاین مرتبط بود (۶۶)، نژادی که در آن به نظر می‌رسد پلی‌مورفیسم ژن $Plcz1$ نیز یک عامل کمک‌کننده باشد (۶۶،۶۵). در نتیجه، در حالیکه هویت عامل فعال‌کننده تخمک اسپرم هنوز در حال تحقیق است، به نظر می‌رسد اتفاق نظر وجود دارد که این یک پروتئین نیمه محلول (یا چندین پروتئین) در دور هسته در سر اسپرم است.

مرغ: Coward و همکاران در سال ۲۰۰۵ برای اولین بار نشان دادند که PLCZ در مهره‌داران غیر پستاندار وجود دارد. با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی ژنومی و cDNA، ما cDNA کدکننده یک ارتولوگ PLCZ را در مرغ خانگی شناسایی کردیم که مانند ایزوفرم‌های پستانداران، یک ژن اختصاصی بیضه است. PLCZ cDNA مرغ ۲۱۵۲ جفت باز است و ۶۳۹ اسیدآمینه را کد می‌کند. هنگامی که به تخمک‌های موش تزریق می‌شود، cRNA PLCZ مرغ باعث نوسانات Ca^{2+} می‌شود که نشان می‌دهد خواص عملکردی مشابه PLCZ پستانداران دارد.

اینجاست که PLCZ در بیضه‌های ماهی پافر بیان نمی‌شود، اما در تخمدان‌ها بیان می‌شود، که نشان می‌دهد مکانیسم عمل و نقش فیزیولوژیکی آن در لقاح ممکن است با گونه‌های مهره‌داران متفاوت باشد (۱۹).

نتیجه گیری

با ادامه رشد جمعیت جهان، بروز ناباروری در حال افزایش است و در حال حاضر ۸ تا ۱۲ درصد از زوج‌ها در سراسر جهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۷۲). از بین فن‌آوری‌های تولید مثل IVF برای درمان ناباروری با علت مردانه (۳۷ درصد) و زنانه (۳۱ درصد) و ناباروری با علت ناشناخته (۳۲ درصد) استفاده می‌شود. به علاوه ICSI نیز یکی از متداولترین روش‌های درمان ناباروری به خصوص با علت مردانه و علت ناشناخته است (۷۳). اگرچه این فن‌آوری‌های سبب بهبود و درمان باروری می‌شود در مواردی نیز با شکست مواجهه می‌شود که یکی از علل مهم آن رخدادهایی است که در ژن PLCZ و پروتئین کدکننده آن مانند کاهش سطح بیان و عدم بیان این ژن به علت جهش‌هایی که رخ می‌دهد است. به علاوه تغییر الگوی لوکالیزیشن در این ژن نیز سبب نقص در فعال‌شدن تخمک و شکست IVF و ICSI می‌شود. در اسپرم انسان بیشترین محل لوکالیزیشن این ژن ناحیه equatorial است. سطوح مختلف این ژن هم‌چنین با برخی از پارامترهای اسپرم مانند موفقولوژی (اکروزوم کوچک) و اسپرماتوزن ارتباط دارد (۷۰). با توجه به نقش پیشنهادی PLCZ در فعال‌سازی تخمک، ممکن است اشکال غیرطبیعی یا عملکرد غیرطبیعی PLCZ علت زمینه‌ای انواع خاصی از ناباروری فاکتور مردانه و شکست فعال‌سازی تخمک باشد. مطالعات نشان داده‌اند که اسپرم مردان نابارور که به‌طور مداوم در IVF و ICSI شکست می‌خورند، قادر به ایجاد Ca^{2+} oscillations پس از تزریق به تخمک‌های نیستند. در واقع، نقش حیاتی PLCZ در فعال‌سازی تخمک با شواهد نشان می‌دهد که سطوح PLCZ، الگوهای لوکالیزیشن، و نسبت اسپرم انسانی که PLCZ را نشان می‌دهند به‌طور قابل‌توجهی با نرخ لقاح ICSI مرتبط است (۳۷، ۳۸). علاوه بر این، کاهش سطح PLCZ با مورفولوژی غیر

طولانی‌مدت در زیست‌شناسی لقاح را حل کند و کارایی و ایمنی روش‌های مورد استفاده برای درمان ناباروری انسان را آزمایش کند (۶۹). گزارش شده که اسپرم موش ناک اوت ژن *Plcz1* (KO) نمی‌تواند تغییرات Ca^{2+} را در تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) القاء کند. برخلاف ICSI، اسپرم *Plcz1* KO باعث ایجاد الگوهای غیر معمول تغییرات Ca^{2+} در لقاح‌های طبیعی شد و بسیاری از تخمک‌های بارور شده در مرحله ۱-۲ سلولی به دلیل شکست فعال‌سازی تخمک یا پلی‌اسپرمی متوقف شدند. هر دو بلاک زونا پلوسیدا به پلی‌اسپرمی (ZBPB) و پلاک غشای پلازما به پلی‌اسپرمی (PMBP) در تخمک‌های بارور شده با اسپرم *Plcz1* KO به تعویق افتادند. با مشاهده اینکه پلی‌اسپرمی در تخمک‌های ماده متالوآندوپیتیداز مشابه آستاسین *Ast1* KO که فاقد ZBPB هستند، نادر است، نتیجه می‌گیریم که PMPB نقش حیاتی‌تری نسبت به ZBPB در داخل بدن دارد. در نهایت، ما توله‌های سالمی از موش‌های نر حامل جهش *PLCZ1* نابارور انسانی توسط ICSI تک اسپرم همراه با تزریق *Plcz1* mRNA به دست آوردیم. این نتایج نشان می‌دهد که اسپرم پستانداران یک مکانیسم فعال‌سازی اولیه تخمک دارند و *PLCZ1* یک SOAF است که مراحل فعال‌سازی تخمک را برای لقاح تک اسپرمی در پستانداران تضمین می‌کند (۶۸، ۷۰).

اردک: شش ژن کاهش‌دهنده شامل *CACNA1I*، *PLCZ*، *PLN*، *PHKA_B*، *CAMK4* و *PDE1* و سه ژن افزایش‌دهنده *CACNA1D*، *RYR2* و *CALM* که در مسیر سیگنال‌دهی کلسیم شرکت می‌کنند در اردک توسط *Li* و همکاران غربالگری شدند. از دست دادن بیان *PLCZ* در بیضه‌های اردک ممکن است عامل مهمی در ایجاد نقص‌های مربوط به پاسخ به اسپرم‌زایی، رشد طبیعی جنین، ترکیب اسپرم و تخمک و سایر فرآیندهای تولیدمثلی باشد که منجر به ناباروری در این اردک‌ها می‌شود (۷۱).

ماهی: Ito و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که تزریق PLCZ ماهی پافر به تخمک‌های موش، برخلاف سایر گونه‌های حیوانی PLCZ، باعث ایجاد نوسانات کلسیم نشد. جالب

ژن PLCZ1 به سرعت فعالیت خود را کاهش دهد. بنابراین، پروتئین PLCZ1 نوترکیب باید قبل از کاربرد آن تثبیت و کالیبره شود (۷۵) با این حال، کاربرد آن در کلینیک های IVF به دلیل در دسترس بودن تجاری محدود است. با کشف PLCZ1 سپس بررسی های به عمل آمده بر روی بیان و لوکالیزیشن آن، نقش مهم و ضروری آن در فعال سازی تخمک و ناباروری شناسایی شد. به طوری که سطح PLCZ1 در اسپرم مردان نابارور نسبت به مردان بارور کمتر است. آزمایشات ژنتیکی جهش های مختلف و جدیدی در این ژن را شناسایی می کند که بر بیان/ قدرت این ژن تاثیر می گذارد. برای یافتن جهش های جدید و متنوع و اثرات آن بر باروری، یک غربالگری ژنتیکی در یک مطالعه کهورت جامع را می طلبد. مطالعات نشان می دهند که تغییر بیان PLCZ1 و جهش های ایجاد شده در آن می تواند سبب کاهش نرخ لقاح ناشی از نقص فعال سازی تخمک و ناهنجاری هایی در پارامترهای اسپرم و شکست در ART شود.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

طبیعی اسپرم مانند تراٹوزواسپرم (۱۷)، و گلوبوزواسپرم همراه است (۳۶). بیان PLCZ1 در داخل سلول اسپرم ممکن است مستقل از تحرک و غلظت باشد. PLCZ1 را می توان به عنوان یک نشانگر زیستی امیدوارکننده برای تشخیص OAD و پیش بینی نتایج لقاح در ICSI استفاده کرد. از طرفی تنوعی از جهش های در دومین های X و Y می تواند سبب کاهش فعالیت کاتالیتیکی و انزیمی و عدم بیان یا کاهش بیان PLCZ1 شود که خود سبب عدم فعال شدن تخمک را به همراه دارد. تزریق PLCZ1 ممکن است برای فعال سازی تخمک های دور تزریق شده با اسپرماتید و سلول های هسته ای سوماتیکی مفید باشد، اما بیان بیش از حد می تواند منجر به توقف مرحله برش تخمک شود (۷۴)، بنابراین این درمان مشکل ساز است. و کاربرد آن در پزشکی تولید مثل دشوار است. مشکل مهم دیگر ورود مواد ژنتیکی به تخمک است که در اکثر نقاط جهان برای پزشکی بشر ممنوع است. در مقابل، PLCZ1 نوترکیب می تواند در باکتری ها به عنوان یک پروتئین همجوشی سنتز شود. این مشکل تغییر بیان PLCZ1 را حل می کند، اما باعث می شود که

References:

- 1- El Osta R, Almont T, Diligent C, Hubert N, Eschwègè P, Hubert J. *Anabolic Steroids Abuse and Male Infertility*. Basic Clinical Andrology 2016; 26(1): 1-8.
- 2- Inhorn MC, Patrizio P. *Infertility around the Globe: New Thinking on Gender, Reproductive Technologies and Global Movements in the 21st Century*. Hum Reprod Update 2015; 21(4): 411-26.
- 3- Ombet W, Cooke I, Dyer S, Serour G, Devroey P. *Infertility and the Provision of Infertility Medical Services in Developing Countries*. Hum Reprod Update 2008; 14(6): 605-21.
- 4- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. *Aging and Infertility in Women*. Fertil Steril 2006; 86(5 Suppl 1): S248-52.
- 5- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. *National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys*. PLoS Med 2012; 9(12): e1001356.
- 6- Nachtigall RD. *International Disparities in Access to Infertility Services*. Fertil Steril 2006; 85(4): 871-5.
- 7- Ombet W. *Global Access to Infertility Care in Developing Countries: A Case of Human Rights, Equity and Social Justice*. Facts Views Vis ObGyn 2011; 3(4): 257.
- 8- Mélo die VanderBorghth, Christine Wyns. *Fertility and Infertility: Definition and Epidemiology*. Clin Biochem 2018; 62: 2-10.

- 9-Lotti F, Maggi M. *Sexual Dysfunction and Male Infertility*. Nat Rev Urol 2018; 15(5): 287-307.
- 10- Wennerholm U-B, Söderström-Anttila V, Bergh C, Aittomäki K, Hazekamp J, Nygren K-G, et al. *Children Born after Cryopreservation of Embryos or Oocytes: A Systematic Review of outcome Data*. Hum Reprod 2009; 24(9): 2158-72.
- 11- Crawford GE, Ledger WL. *In Vitro Fertilisation/Intracytoplasmic Sperm Injection Beyond 2020*. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology 2019; 126(2): 237-43.
- 12-Esteves SC, Oliveira FV, Bertolla RP. *Clinical Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection in Infertile Men with Treated and Untreated Clinical Varicocele*. J Urol 2010; 184: 1442-6.
- 13- Magata F, Tsuchiya K, Okubo H, Ideta A. *Application of Intracytoplasmic Sperm Injection to the Embryo Production in Aged Cows*. J Vet Med Sci 2018; 18: 84-90.
- 14-Esteves SC, Roque M, Bedoschi G, Haahr T, Humaidan P. *Intracytoplasmic Sperm Injection for Male Infertility and Consequences for Offspring*. Nat Rev Urol 2018; 15(9): 535-62.
- 15-Of the American TPC. *Intracytoplasmic Sperm Injection (Icsi) for Non-Male Factor Infertility: A Committee Opinion*. Fertil Steril 2012; 98(6): 1395-9.
- 16-Nijs M, Ombelet W. *Intracytoplasmic Sperm Injection in Assisted Reproductive Technology: An Evaluation*. Hum Fert 2000; 3: 221-5.
- 17-Vanden Meerschaut F, Nikiforaki D, Heindryckx B, De Sutter P. *Assisted Oocyte Activation Following ICSI Fertilization Failure*. Reprod Biomed Online 2014; 28(5): 560-71.
- 18-Yoon SY, Fissore RA. *Release of Phospholipase C Zeta and [Ca²⁺]_i Oscillation-Inducing Activity during Mammalian Fertilization*. Reprod 2007; 134(5): 695-704.
- 19-Ito M, Shikano T, Oda S, Horiguchi T, Tanimoto S, Awaji T, et al. *Difference in Ca²⁺ Oscillation-Inducing Activity and Nuclear Translocation Ability of PLCZ1, an Egg-Activating Sperm Factor Candidate, between Mouse, Rat, Human, and Medaka Fish*. Biol Reprod 2008; 78(6): 1081-90.
- 20-Kashir J, Heindryckx B, Jones C, De Sutter P, Parrington J, Coward K. *Oocyte Activation, Phospholipase C Zeta and Human Infertility*. Hum Reprod Update 2010; 16(6): 690-703.
- 21-Kashir J, Jones C, Lee HC, Rietdorf K, Nikiforaki D, Durrans C, et al. *Loss of Activity Mutations in Phospholipase C Zeta (Plcζ) Abolishes Calcium Oscillatory Ability of Human Recombinant Protein in Mouse Oocytes*. Hum Reprod 2011a; 26(12): 3372-87.
- 22-Kashir J, Jones C, Coward K. *Calcium Oscillations, Oocyte Activation, and Phospholipase C Zeta*. Adv Exp Med Biol 2012a; 740: 1095-121.
- 23-Ramadan WM, Kashir J, Jones C, Coward K. *Oocyte Activation and Phospholipase C Zeta (Plcζ): Diagnostic and Therapeutic Implications for Assisted Reproductive Technology*. Cell Commun Signal 2012; 10(1): 12.
- 24-Kashir J, Heynen A, Jones C, Durrans C, Craig J, Gadea J, et al. *Effects of Cryopreservation and Density-Gradient Washing on Phospholipase C Zeta Concentrations in Human Spermatozoa*. Reprod Biomed Online 2011b; 23(2): 263-7.

- 25-Kashir J, Jones C, Mounce G, Ramadan WM, Lemmon B, Heindryckx B, et al. *Variance in Total Levels of Phospholipase C Zeta (PLC-Z) in Human Sperm May Limit the Applicability of Quantitative Immunofluorescent Analysis as a Diagnostic Indicator of Oocyte Activation Capability*. Fertil Steril 2013; 99: 107-17.
- 26-Kashir J, Konstantinidis M, Jones C, Lemmon B, Lee HC, Hamer R, et al. *A Maternally Inherited Autosomal Point Mutation in Human Phospholipase C Zeta (Plcζ) Leads to Male Infertility*. Hum Reprod 2012b; 27: 222-31.
- 27-Kaewmala K, Uddin MJ, Cinar MU, Große-Brinkhaus C, Jonas E, Tesfaye D, et al. *Investigation Into Association and Expression of Plcz and COX-2 as Candidate Genes for Boar Sperm Quality and Fertility*. Reprod Domest Anim 2012; 47(2): 213-23.
- 28-Bedford-Guaus SJ, McPartlin LA, Xie J, Westmiller SL, Buffone MG, Roberson MS. *Molecular Cloning and Characterization of Phospholipase C Zeta in Equine Sperm and Testis Reveals Species-Specific Differences in Expression of Catalytically Active Protein*. Biol Reprod 2011; 85: 78-88.
- 29-Nakai M, Ito J, Sato K, Noguchi J, Kaneko H, Kashiwazaki N, Kikuchi K. *Pre-Treatment of Sperm Reduces Success of ICSI in the Pig*. Reprod 2011; 142(2): 285-93.
- 30-Nomikos M, Yu Y, Elgmati K, Theodoridou M, Campbell K, Vassilakopoulou V, et al. *Phospholipase Cζ Rescues Failed Oocyte Activation in a Prototype of Male Factor Infertility*. Fertil Steril 2013; 99(1): 76-85.
- 31-Saunders CM, Larman MG, Parrington J, Cox LJ, Royse J, Blayney LM, et al. *Plcz: A Sperm-Specific Trigger of Ca2p Oscillations in Eggs and Embryo Development*. Development 2002; 129(15): 3533-44.
- 32-Fujimoto S, Yoshida N, Fukui T, Amanai M, Isobe T, Itagaki C, et al. *Mammalian Phospholipase Cz Induces Oocyte Activation from the Sperm Perinuclear Matrix*. Dev Biol 2004; 274(2): 370-83.
- 33-Yoda A, Oda S, Shikano T, Kouchi Z, Awaji T, Shirakawa H, et al. *Ca2p Oscillation-Inducing Phospholipase C Zeta Expressed in Mouse Eggs is Accumulated to the Pronucleus During Egg Activation*. Dev Biol 2004; 268(2): 245-57.
- 34-Kouchi Z, Fukami K, Shikano T, Oda S, Nakamura Y, Takenawa T, et al. *Recombinant Phospholipase Cz Has High Ca2p Sensitivity and Induces Ca2p Oscillations in Mouse Eggs*. J Biol Chem 2004; 279(11): 10408-12.
- 35-Yoon SY, Jellerette T, Salicioni AM, Lee HC, Yoo MS, Coward K, et al. *Human Sperm Devoid of PLC, Zeta 1 Fail to Induce Ca(2p) Release and are Unable to Initiate the First Step of Embryo Development*. J Clin Invest 2008; 118: 3671-81.
- 36-Meng X, Melo P, Jones C, Ross C, Mounce G, Turner K, et al. *Use of Phospholipase C Zeta Analysis to Identify Candidates for Artificial Oocyte Activation: A Case Series of Clinical Pregnancies and a Proposed Algorithm for Patient Management*. Fertil Steril 2020; 114(1): 163-74.
- 37-Yelumalai S, Yeste M, Jones C, Amdani SN, Kashir J, Mounce G, et al. *Total Levels, Localization Patterns, and Proportions of Sperm Exhibiting Phospholipase C Zeta are Significantly Correlated with Fertilization Rates after Intracytoplasmic Sperm Injection*. Fertil Steril 2015; 104(3): 561-8.

- 38-Nazarian H, Azad N, Nazari L, Piryaei A, Heidari MH, Masteri-Farahani R, et al. *Effect of Artificial Oocyte Activation on Intra-Cytoplasmic Sperm Injection Outcomes in Patients with Lower Percentage of Sperm Containing Phospholipase Cz: A Randomized Clinical Trial*. J Reprod Infertil 2019; 20: 3-9.
- 39-Amdani SN, Yeste M, Jones C, Coward K. *Phospholipase C Zeta (Plcz) and Male Infertility: Clinical Update and Topical Developments*. Adv Biol Regul 2016; 61: 58-67.
- 40-Ebner T, Montag M, Montag M, Van der Ven K, Van der Ven H, Ebner T, et al. *Live Birth after Artificial Oocyte Activation Using a Ready-To-Use Ionophore: A Prospective Multicentre Study*. Reprod Biomed Online 2015; 30(4): 359-65.
- 41-Bonte D, Ferrer-Buitrago M, Dhaenens L, Popovic M, Thys V, De Croo I, et al. *Assisted Oocyte Activation Significantly Increases Fertilization and Pregnancy Outcome in Patients with Low and Total Failed Fertilization after Intracytoplasmic Sperm Injection: a 17-Year Retrospective Study*. Fertil Steril 2019; 112(2): 266-74.
- 42-Nikiforaki D, Meerschaut FV, De Roo C, Lu Y, Ferrer-Buitrago M, De Sutter P, et al. *Effect of Two Assisted Oocyte Activation Protocols Used to Overcome Fertilization Failure on the Activation Potential and Calcium Releasing Pattern*. Fertil Steril 2016; 105: 798-806.
- 43-Sanusi R, Yu Y, Nomikos M, Lai FA, Swann K. *Rescue of Failed Oocyte Activation after ICSI in a Mouse Model of Male Factor Infertility by Recombinant Phospholipase Czeta*. Mol Hum Reprod 2015; 21(10): 783-91.
- 44-Bhak JS, Lee SL, Ock SA, Mohana Kumar B, Choe SY, Rho GJ. *Developmental Rate and Ploidy of Embryos Produced by Nuclear Transfer with Different Activation Treatments in Cattle*. Anim Reprod Sci 2006; 92: 37-49.
- 45-Mu J, Zhang Z, Wu L, Fu J, Chen B, Yan Z, Li B, et al. *The Identification of Novel Mutations in PLCZ1 Responsible for Human Fertilization Failure and a Therapeutic Intervention By Artificial Oocyte Activation*. Mol Hum Reprod 2020; 26(2): 80-7
- 46-Heytens E, Parrington J, Coward K, Young C, Lambrecht S, Yoon SY, et al. *Reduced Amounts and Abnormal Forms of Phospholipase C Zeta (Plczeta) in Spermatozoa from Infertile Men*. Hum Reprod 2009; 24(10): 2417-28.
- 47-Nomikos M, Elgmati K, Theodoridou M, Calver BL, Cumbes B, Nounesis G, et al. *Male Infertility-Linked Point Mutation Disrupts the Ca²⁺ Oscillation-Inducing and PIP(2) Hydrolysis Activity of Sperm Plczeta*. Biochem J 2011; 434(2): 211-7.
- 48-Kashir J, Konstantinidis M, Jones C, Lemmon B, Lee HC, Hamer R, et al. *A Maternally Inherited Autosomal Point Mutation in Human Phospholipase C Zeta (Plczeta) Leads to Male Infertility*. Hum Reprod 2012; 27(1): 222-31.
- 49-Yan Z, Fan Y, Wang F, Yan Z, Li M, Ouyang J, et al. *Novel Mutations in PLCZ1 Cause Male Infertility Due to Fertilization Failure or Poor Fertilization*. Hum Reprod 2020; 35(2): 472-81.
- 50-Dai J, Dai C, Guo J, Zheng W, Zhang T, Li Y, et al. *Novel Homozygous Variations in PLCZ1 Lead to*

- Poor or Failed Fertilization Characterized by Abnormal Localization Patterns of Plc ζ in Sperm.* Clin Genet 2020; 97(2): 347-51.
- 51-Torra-Massana M, Cornet-Bartolomé D, Barragán M, Durban M, Ferrer-Vaquer A, Zambelli F, et al. *Novel Phospholipase C Zeta 1 Mutations Associated with Fertilization Failures after ICSI.* Hum Reprod 2019; 34(8): 1494-504 .
- 52-Yuan P, Zheng L, Liang H, Lin Q, Ou S, Zhu Y, et al. *Novel Mutations in the PLCZ1 Gene Associated with Human Low or Failed Fertilization.* Mol Genet Genomic Med 2020b; 8(10): e1470.
- 53-Escoffier J, Lee HC, Yassine S, Zouari R, Martinez G, Karaouzène T, et al. *Homozygous Mutation of PLCZ1 Leads to Defective Human Oocyte Activation and Infertility that is Not Rescued by the WW-Binding Protein PAWP.* Hum Mol Genet 2015a; 25(5): 878-91.
- 54-Ferrer-Vaquer A, Barragan M, Freour T, Verneave V, Vassena R. *Plc ζ Sequence, Protein Levels, and Distribution in Human Sperm Do Not Correlate with Semen Characteristics and Fertilization Rates after ICSI.* J Assist Reprod Genet 2016; 33(6): 747-56
- 55-Tavalaee M, Kiani-Esfahani A, Nasr-Esfahani MH. *Relationship between Phospholipase C-Zeta, Semen Parameters, and Chromatin Status.* Syst Biol Reprod Med 2017; 63(4): 259-68.
- 56-Kashir J, Sermondade N, Sifer C, Oo SL, Jones C, Mounce G, et al. *Motile Sperm Organelle Morphology Evaluation-Selected Globozoospermic Human Sperm with an Acrosomal Bud Exhibits Novel Patterns and Higher Levels of Phospholipase C Zeta.* Hum Reprod 2012; 27(11): 3150-60.
- 57-Yeste M, Jones C, Amdani SN, Yelumalai S, Mounce G, da Silva SJM, et al. *Does Advancing Male Age Influence the Expression Levels and Localisation Patterns of Phospholipase C Zeta (Plcz) in Human Sperm?* Sci Rep 2016; 6: 27543.
- 58-Bounartzi T, Dafopoulos K, Anifandis G, Messini CI, Koutsonikou C, Kouris S, et al. *Pregnancy Prediction by Free Sperm DNA and Sperm DNA Fragmentation in Semen Specimens of IVF/ICSI-ET Patients.* Hum Fertil (Camb) 2016; 19(1): 56-62.
- 59-Wang C, Swerdloff RS. *Limitations of Semen Analysis as a Test of Male Fertility and Anticipated Needs from Newer Tests.* Fertil Steril 2014; 102: 1502-7.
- 60-Jones C, Meng X, Coward K. *Phospholipase C Zeta (PLCZ1) and the Clinical Diagnosis of Oocyte Activation Deficiency.* Reproduction. Reprod 2022; 164: F53-66.
- 61-Abadi MK, Tavalae M, Shahverdi A, Nasr-Esfahani MH. *Evaluation of Plc ζ and PAWP Expression in Globozoospermic Individuals.* Cell J 2016; 18(3): 438-45.
- 62-Azad N, Nazarian H, Novin MG, Farahani RM, Piryaei A, Heidari MH. *Phospholipase C Zeta Parameters in Sperm from Polymorphic Teratozoospermic Men.* Ann Ant 2018; 215: 63-70.
- 63-Azad N, Nazarian H, Novin MG, Farahani RM, Piryaei A, Heidari MH, Alitappeh MA. *Oligoasthenoteratozoospermic (OAT) Men Display Altered Phospholipase C Z (Plc ζ) Localization and a Lower Percentage of Sperm Cells Expressing Plc ζ and Post-Acrosomal Sheath WW Domain-Binding Protein (PAWP).* Bosn J Basic Med Sci 2018; 18(2): 178-84.

- 64-Ross PJ, Rodriguez RM, Iager AE, Beyhan Z, Wang K, Ragina N, et al. *Activation of Bovine Somatic Cell Nuclear Transfer Embryos by PLCZ Crna Injection*. *Reprod* 2009; 137: 427-37.
- 65-Yamaguchi T, Ito M, Kuroda K, Takeda S, Tanaka A. *The Establishment of Appropriate Methods for Egg-Activation by Human PLCZ1 RNA Injection Into Human Oocyte*. *Cell Calcium* 2017; 65: 22-30.
- 66-Sutovsky P. *Review: Sperm–Oocyte Interactions and their Implications for Bull Fertility, with Emphasis on the Ubiquitin–Proteasome System*. *Animal* 2018; 12(s1): s121-s32.
- 67-Coward K, Ponting CP, Chang HY, Hibbitt O, Savolainen P, Jones KT, Parrington J. *Phospholipase C ζ , the Trigger of Egg Activation in Mammals, is Present in a Non-Mammalian Species*. *Reprod* 2005; 130(2): 157-63.
- 68-Amoroso-Sanches F, Gonzalez-Castro R, Stokes J, Carnevale E. *180 Stallion Sperm Phospholipase C Zeta Affects Cleavage Rates after Intracytoplasmic Injection in Bovine Oocytes*. *Reprod Fertil Develop* 2018; 31(1): 214-5.
- 69-Hachem A, Godwin J, Ruas M, Lee HC, Ferrer Buitrago M, Ardestani G, et al. *Plc ζ is the Physiological Trigger of the Ca $^{2+}$ Oscillations that Induce Embryogenesis in Mammals but Conception Can Occur in its Absence*. *Development* 2017; 144(16): 2914-24.
- 70-Nakai M, Ito J, Suyama A, Kageyama A, Tobari Y, Kashiwazaki N. *Phospholipase C ζ (Plc ζ) Versus Postacrosomal Sheath WW Domain-Binding Protein (PAWP): Which Molecule Will Survive as a Sperm Factor?*. *Anim Sci J* 2020; 91(1): e13345.
- 71-Li L, Zhang L, Zhang Z, Keyhani NO, Xin Q, Miao Z, et al. *Comparative Transcriptome and Histomorphology Analysis of Testis Tissues from Mulard and Pekin Ducks*. *Arch Anim Breed* 2020; 63(2): 303-13.
- 72-Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, Cho C-L, Henkel R, Vij S, et al. *Male Infertility*. *Lancet* 2021; 397(10271): 319-33.
- 73-Sanders KD, Silvestri G, Gordon T, Griffin DK. *Analysis of IVF Live Birth Outcomes with and without Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy (PGT-A): UK Human Fertilisation and Embryology Authority Data Collection 2016-2018*. *J Assist Reprod Genet* 2021; 38(12): 3277-285
- 74-Zafar MI, Lu S, Li H. *Sperm-Oocyte Interplay: An Overview of Spermatozoon's Role in Oocyte Activation and Current Perspectives in Diagnosis and Fertility Treatment*. *Cell Biosci* 2021; 11(1): 1-5.
- 75-Saleh A, Kashir J, Thanassoulas A, Safieh-Garabedian B, Lai FA, Nomikos M. *Essential Role of Sperm-Specific PLC-Zeta in Egg Activation and Male Factor Infertility: An Update*. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 28.

Relation of PLC ζ Gene with Sperm and Oocyte Parameters in Infertility Treatment based on Assisted Reproductive Technologies: Review

Fatemeh Mehrabi¹, Mohammad Ebrahim Parsanezhad^{1,2},
Mehrdad shariati³, Mohammad Amin Edalatmanesh¹

Review Article

Introduction: As the world's population increases, the incidence of infertility is increasing, and infertility is now considered to affect 8–12% of couples worldwide. Assisted reproductive technology (ART) such as in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is revolutionizing the field of reproductive medicine and strives continuously to provide infertile patients with access to appropriate and efficient treatments. However, some causes leading to total/low fertilization rate in ART have been addressed. Phospholipase C zeta (PLC ζ) is the main sperm-specific factor responsible for triggering oocyte activation (OA). Therefore, PLC ζ abnormalities, including low and absent expression as well as its mutation has been described as one of the fertility rate inducers resulted from the oocyte activation deficiency and sperm parameters abnormalities and failed IVF and ICSI cycles. In this review article we have aimed to focus on the latest information of the PLC ζ published data in the Web of Science, Scopus, Science Direct and PubMed databases and resulted in the failed IVF and ICSI and recurrent ICSI and IVF failure. In addition the investigations on PLC ζ gene and its coded protein in the animals have been also reported.

Conclusion: Studies have shown that the change in PLC ζ expression and its mutations can cause a decrease in the fertilization rate due to egg activation defects and abnormalities in sperm parameters and failure in ART.

Keywords: Infertility, Intracytoplasmic Sperm injection, In-vitro fertilization.

Citation: Mehrabi F, Parsanezhad M.E, shariati M, Edalatmanesh M.A. **Relation of PLC ζ Gene with Sperm and Oocyte Parameters in Infertility Treatment based on Assisted Reproductive Technologies: Review.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2023; 30(12): 6147-62.

¹Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

²Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Infertility Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

³Department of Biology, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09171170683, email: parsameb@gmail.com