Review Article

Apoptosis in the ovary and follicular atresia

Mazoochi T[1*], Ehteram M[2]

1- Gametogenesis Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Student Research Committee, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received: 2018/01/24 | Accepted: 2018/02/19

Abstract:

Background: In the ovary, growing follicles develop from a pool of primordial follicles constituted early in life. The majority of ovarian follicles undergo atresia. Follicular atresia is an important and negative process during the development of ovarian follicles. Cell apoptosis is believed to be involved in this process. This article is an overview of some researches on apoptosis in the ovaries and the factors involved in it.
Materials and Methods: In this review article, the PubMed, Scopus, Embase, Current Content, and IranMedex databases were searched using keywords such as "apoptosis" and "ovary". The full-text articles published between 1997 and 2017 in English or Persian were included in the study. The genes involved in ovarian apoptosis and factors controlling follicle atresia and their role in ovarian follicular reserve and fertility were investigated.
Results: Although follicular atresia occurs at all stages of follicular development, it has been shown that this process is dependent on the developmental stage and a large part of it is observed in the transitional stage between the preantral follicles and the antrum formation. Different paracrine and autocrine factors control the cell death of the ovary.
Conclusion: Ovarian cells receive conflicting signals for survival and death, and it seems that the reason for determining the fate of cells in different stages of follicular development is the interaction between different signals.

Keywords: Ovary, Atresia, Apoptosis, Follicle

* **Corresponding Author.**
Email: mazoochi45@yahoo.com
Tel: 0098 913 361 0153
Fax: 0098 315 557 9028

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2018; Vol. 22, No 1, Pages 112-119

Please cite this article as: Mazoochi T, Ehteram M. Apoptosis in the ovary and follicular atresia. ***Feyz*** 2018; 22(1): 112-9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

آپوپتوز در تخمدان و آترزی فولیکولی

طاهره مازوچی [1*]، محمد احترام [2]

خلاصه:

سابقه و هدف: در تخمدان، فولیکول‌های در حال رشد از مجموعه فولیکول‌های بدوی که در ابتدای زندگی جنینی ایجاد شده‌اند، تکامل می‌یابد. بیشتر فولیکول‌های تخمدانی دچار فرایند حذفی به نام آترزی فولیکولی می‌شوند. آترزی فولیکولی یک فرآیند مهم و انتخاب منفی در طول رشد و تکوین فولیکول‌های تخمدانی است. عقیده بر این است که مرگ سلولی، آپوپتوز، در این فرآیند دخیل است. این مقاله مروری است بر برخی پژوهش‌هایی که در زمینه آپوپتوز در تخمدان و فاکتورهای دخیل در آن انجام شده است.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه مروری ابتدا جستجو در بانک‌های اطلاعاتی PubMed, Scopus , Embase, Current Content, IranMedex با کلمات کلیدی آپوپتوز و تخمدان انجام شد. سپس، مقالات چاپ شده به زبان‌های انگلیسی و فارسی از سال ۱۳۷۶ تا ۱۳۹۶ که به‌صورت تمام‌متن در دسترس بودند، مطالعه شدند. ژن‌های دخیل در آپوپتوز تخمدانی و فاکتورهای کنترل کننده آترزی فولیکولی و نقش آن‌ها در ذخیره فولیکول‌های تخمدانی و باروری بررسی شدند.

نتایج: اگرچه آترزی فولیکولی در همه مراحل تکوین فولیکولی اتفاق می‌افتد، اما مشخص شده است که یک فرآیند وابسته به مرحله تکوینی است و بخش زیادی از آن در مرحله انتقالی بین فولیکول‌های پره‌آنترال و شروع تشکیل آنتروم مشاهده می‌شود. فاکتورهای پاراکرین و اتوکرین مختلفی مرگ سلولی تخمدان را کنترل می‌کنند.

نتیجه‌گیری: سلول‌های تخمدان سیگنال‌های متضادی را برای بقا و مرگ دریافت می‌کنند و آنچه که تعیین‌کننده سرنوشت سلول‌ها در مراحل مختلف تکوین فولیکولی است، تعامل بین سیگنال‌های مختلف است.

واژگان کلیدی: تخمدان، آپوپتوز، آترزی، فولیکول

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۹۷، صفحات ۱۱۹-۱۱۲

مقدمه

در دوران جنینی در تخمدان انسان تقریبا ۷ میلیون سلول زایا وجود دارد که تعداد زیادی از آن‌ها از طریق Prenatal germ cell death از بین می‌روند. این مرگ سلولی بعد از تولد هم ادامه پیدا می‌کند تا اینکه در زمان بلوغ تقریبا چهارصدهزار فولیکول در دو تخمدان وجود دارد. از این تعداد فولیکول که در شروع بلوغ وجود دارد، تنها حدود ۴۰۰ فولیکول در طول زندگی تولید مثلی یک زن، تخمک‌گذاری و رها می‌شود. ازآنجایی‌که فولیکول‌های کمی در تخمدان افراد یائسه دیده می‌شوند، بنابراین بیش از ۹۹ درصد فولیکول‌های تخمدانی در طول زندگی تولید مثلی از طریق فرایندی به نام Postnatal follicular atresia دژنره می‌شوند [۲،۱].

اترزی فولیکولی یک فرآیند مهم و انتخاب منفی در طول رشد و تکوین فولیکول‌های تخمدانی است که تا حد زیادی به سرنوشت فولیکول‌های تخمدانی و باروری وابسته است [۴،۳]. این فرایند اگرچه در همه مراحل تکوین فولیکولی اتفاق می‌افتد، اما مشخص شده است که یک فرآیند وابسته به مرحله تکوینی است و بخش زیادی از آن در مرحله انتقالی بین فولیکول‌های پره‌آنترال و شروع تشکیل آنتروم مشاهده شده است [۷-۵]. عقیده بر این است که مرگ سلولی، آپوپتوز، در این فرآیند دخیل است [۱۰-۸]. گنادو-تروپین‌ها فاکتورهای بقایی هستند که از آترزی جلوگیری می‌کنند. همچنین، فاکتورهای رشد EGF، TGF-α، bFGF، IGF-1 و سیتوکین IL-1β به‌عنوان فاکتور بقای فولیکولی شناسایی شده‌اند. استروژن و اینهیبین به‌عنوان مهارکننده آترزی فولیکولی شناخته شده‌اند. درحالی‌که، آندروژن‌ها، activin، IL-6، TNFα (Tumor Necrosis Factor-α)، FasL و GnRH آترزی را القا می‌کنند [۱۴-۱۱]. نقش آنتی‌ژن Fas و مسیر مرگ با واسطه p53 به‌عنوان نقش مرکزی در القا آترزی فولیکولی مطرح شده است [۱۵]. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که آترزی فولیکولی با آپوپتوز سلول‌های گرانولوزای فولیکولی آغاز شده و سپس دیگر ترکیبات فولیکولی دچار مرگ می‌شوند [۱۰،۵]. تغییرات مورفولوژیک که مشخصه آپوپتوز است (حباب‌دار شدن

[1] دانشیار، مرکز تحقیقات تولید سلول های جنسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[2] دانشجوی دندان پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
مرکز تحقیقات تولید سلول های جنسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

تلفن: ۰۹۱۳۳۶۱۰۱۵۳ **دورنویس:** ۰۳۱۵۵۵۷۹۰۲۸

پست الکترونیک: mazoochi45@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۴ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۶/۱۱/۳۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

سیتوپلاسم، متراکم شدن کروماتین، قطعه‌قطعه شدن سلولی و تشکیل اجسام آپوپتوتیک) ابتدا در سلول‌های گرانولوزا و سپس در لایه سلول‌های تکا دیده می‌شود. همچنین، حضور فعالیت اندونوکلئاز وابسته به Ca^{2+}/mg^{2+} که مشخصه بیوشیمیایی آپوپتوز بوده و بر تغییرات مورفولوژیک مقدم است، به‌طور مشخص در سلول‌های گرانولوزا و سپس سلول‌های تکا دیده شده است [۱۶]. اگرچه وقوع مرگ سلولی طبیعی در فولیکول‌های تخمدانی اولین بار به‌وسیله Flemming [۱۷] در سال ۱۸۸۵ و براساس مشاهدات مورفولوژیکی توصیف شده است و علی‌رغم وقوع زیاد آن، حوادث مولکولی این پدیده هنوز به‌خوبی مشخص نشده است. در این مطالعه مروری به بحث پیرامون ژن‌های درگیر در آپوپتوز فولیکول‌های تخمدانی و مراحل آن پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه مروری ابتدا جستجو در بانک‌های اطلاعاتی PubMed, Scopus, Embase, Current Content, IranMedex با کلمات کلیدی آپوپتوز، تخمدان و آترزی فولیکولی انجام شد. این مطالعات مقالات چاپ شده به زبان‌های انگلیسی و فارسی از سال ۱۹۹۷ تا ۲۰۱۷ به صورت مقاله کامل را شامل می‌شود.

نتایج

روش‌های بررسی آترزی فولیکولی و آپوپتوز در مقالات:

در تعدادی از مطالعات جهت بررسی آپوپتوز فولیکول‌های تخمدانی، ابتدا آترزی القا شده است؛ بدین‌منظور از روش‌های مختلفی استفاده شده است، مثل حذف گنادوتروپین‌ها به‌وسیله هیپوفیزکتومی یا کاربرد فنوباربیتون و یا استفاده از eCG (ecoin Choronic Gonadotropin) و یا PMSG (Post Menopausal Gonadotrophin)، که این ترکیبات رشد و تکوین فولیکول‌های تخمدانی را برای ۳-۲ روز تحریک کرده، سپس به‌علت کاهش سطح تروفیک‌ها، فولیکول‌ها دچار آترزی می‌شوند. در مطالعه Hughes و همکاران [۱۶] با القا اترزی فولیکولی به‌وسیله تزریق IU ۱۵ از PMSG و سپس کاهش سطح حمایت تروفیکی حاصل از متابولیسم گنادوتروپین‌ها، نشان دادند که زودترین علامت مورفولوژیک آترزی ۴ روز پس از تزریق PMSG مشاهده می‌شود. استروژن سرم در روز سوم، از سطح پایه تا ۷ برابر گروه کنترل افزایش یافته، اما از روز چهارم به بعد کاهش می‌یابد. برعکس پروژسترون تا روز سوم در سطح پایه باقی مانده، ولی در روز چهارم و پنجم پس از تزریق، به‌ترتیب ۳ و ۸ برابر می‌شود. همچنین، مشخص شد که با القا آترزی فولیکولی تولید استروئیدها از استروژن به پروژسترون شیفت پیدا می‌کند. Kim و همکاران در سال ۱۹۹۹ [۱۵] از eCG (IU ۱۵ در ۲۰۰µl سالین) برای القا تکوین فولیکولی و آترزی استفاده کردند و نشان دادند که القا آپوپتوز سلول گرانولوزا و آترزی فولیکول فعالیت Fas را در یک مکانیسم وابسته به p53 سبب می‌شود. همچنین، بیان بیش از اندازه ژن p53 سبب افزایش پروتئین Fas و آپوپتوز شدید می‌شود. Uma و همکاران [۱۰] در تحقیقی به تعیین زمان شروع آپوپتوز سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های پره‌اوولتیوری در میمون پس از قطع گنادوتروپین‌ها پرداختند. حضور قطعات با وزن مولکولی کم (LMV) پس از ۴۸ ساعت از قطع گنادوتروپین‌ها دیده شد. اما ژل الکتروفورز طرح نردبانی DNA را پس از ۷۲ ساعت نشان داد. با شروع آپوپتوز بیان mRNA برای Bax، کاسپاز ۲ و ۳ افزایش نشان داد.

مسیرهای تعیین کننده مرگ یا بقا فولیکول:

در سطح مولکولی، فرآیند آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا به ۳ فاز تقسیم می‌شود [۱۸]. فاز شروع می‌تواند به وسیله فاکتورهای خارجی مانند سیتوکین‌ها، TNFα، Fas (FasL) Ligand، Tumor necrosis factor related (TRAIL) apoptosis inducing ligand، پروتئین‌های پوشش ویروسی و یا قطع فاکتورهای رشد آغاز شود. همچنین، می‌تواند به‌وسیله فاکتورهای داخلی شامل استرس‌های اکسیداتیو، اشعه یا فعالیت ژن‌های سرکوب کننده تومور مانند p53 و رتینوبلاستوم القا شود [۱۹]. حالت اول را با واسطه گیرنده و دومی را مستقل از گیرنده می‌گویند. هرکدام از این مسیرها یک یا چند کاسپاز آغازین مانند کاسپاز ۸ و ۹ را درگیر می‌کند. این فاز قابل برگشت است و می‌تواند در بعضی موارد به‌وسیله مسیرهای که سریعا فعال شده‌اند، ممانعت شود. فاز دوم فاز اجرایی است و مشخصه این فاز تغییر در غشاء سلول (مانند حباب‌دار شدن)، قطعه‌قطعه شدن هسته، متراکم شدن کروماتین و دژنره شدن DNA است. این فاز غیرقابل برگشت است و به‌وسیله فعالیت کاسپازهای عمل کننده مانند ۳، ۶ و ۷ که آن هم در نتیجه فعالیت کاسپازهای آغازین بوده است، انجام می‌گیرد. در فاز اختتام دژنره شدن پروتئین‌ها، تشکیل اولیگو-نوکلئوزوم، حباب‌دار شدن غشا و تشکیل اجسام آپوپتوتیک انجام می‌شود. درنهایت فاگوسیتوز اجسام آپوپتوتیک قطعه‌قطعه شده به‌وسیله فاگوسیت‌ها و سلول‌های زنده مجاور از طریق یک فرآیند غیرالتهابی صورت می‌گیرد [۲۰،۱۱،۱]. در نوع دوم مرگ سلولی که از طریق مسیر داخلی و در حقیقت غیروابسته به گیرنده انجام

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

می‌گیرد، در نهایت اختلالات غیرقابل برگشتی در غشاء میتوکندری ایجاد می‌کند. چنین تغییراتی سبب آزاد شدن سیتوکروم C میتو-کندریایی و second mitochondria –drived Diablo/smac activator of caspases به داخل سیتوزول می‌شود. هرکدام از این حوادث سبب فعال شدن کاسپازهای آغازین و آبشار کاسپازی می‌شود. پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک مثل اعضای خانواده آنتی-آپوپتوتیک Bcl-2 و پروتئین‌های بقا وجود دارد که پیشرفت آپوپتوز را در مراحل مختلف مسیر مرگ سلولی بلوک می‌کند. این پروتئین‌ها یا به‌طور مستقیم از آزاد شدن و یا فعالیت فاکتورهای میتوکندریایی مثل سیتوکروم C جلوگیری می‌کنند، یا از فعالیت کاسپازهای آغازین جلوگیری کرده و یا اینکه فعالیت کاسپازهای اجرایی را خنثی می‌کنند. در فولیکول‌های بدوی و اولیه میزان بقا بستگی به فاکتورهای بقای مشتق شده از تخمک دارد. در این مرحله از تکوین فولیکولی، مرگ سلول‌های زایا می‌تواند در نتیجه چندین عامل باشد: دسترسی ناکافی به فاکتورهای بقا مانند Stem cell factor، Insulin-like growth factor (IGF-1)، (LIF) Leukemia inhibitory factor یا (GDF-9) Growth and differentiation factor-9 و یا نتیجه نقص ژنتیکی و یا عوامل شیمی‌درمانی که ساخت lipid–based second messenger (ceramide) را پیش می‌برند. برخلاف فولیکول‌های بدوی و اولیه، در فولیکول‌های پره‌آنترال که وابسته به FSH هستند، فاکتور اولیه در تعیین سرنوشت فولیکول، زنده ماندن سلول‌های گرانولوزا است که سلول ژرم را تغذیه می‌کند. لایه گرانولوزا ممکن است سیگنال‌های بقا سلولی را از سلول‌های ژرم و یا لایه تکا مجاور دریافت کند. در فولیکول‌های آنترال مکانیسم‌های مختلفی می‌تواند سیگنال مرگ فولیکولی باشد. دو الگوی مشخص مرگ سلولی در این مرحله وجود دارد: آترزی آنترال که در آن مرگ سلولی آپوپتوتیک ابتدا در نزدیک‌ترین سلول‌های گرانولوزا به آنتروم صورت می‌گیرد و ممکن است به‌وسیله عواملی از لایه گرانولوزا یا حتی تخمک منشأ گرفته باشد. حالت دوم آترزی بازال است که ابتدا مرگ سلولی در سلول‌های گرانولوزا نزدیک به غشاء پایه صورت می‌گیرد و ممکن است به‌وسیله فاکتورهای خارجی آغاز شده باشد [۱]. بدین‌ترتیب مسیرهای متعددی وجود دارد که مرگ یا بقا سلول را تعیین می‌کند. اما آنچه که نقش مهمی در تعیین سرنوشت سلول‌های ژرم و سوماتیک تخمدان دارد تعامل بین فاکتورهای اندوکرین، پاراکرین و اتوکرین و همچنین تعامل بین پروتوانکوژن‌ها، ژن‌های مهارکننده تومور، ژن‌های بقا و ژن‌های مرگ است.

فاکتورهای اندوکرین کنترل‌کننده مرگ سلولی تخمدان:

گنادوتروپین‌ها، FSH و LH هورمون‌های اصلی هستند که سیگنال‌های بقا را به فولیکول‌ها انتقال می‌دهند. آنها این کار را از طریق مسیر Protein Kinase A (PKA) و بالا بردن سطح داخل سلولی cAMP انجام می‌دهند [۱۱]. پاسخ سلول‌ها به cAMP بستگی به شدت و دوره آن و همچنین به درجه بلوغ سلول‌های گرانولوزا دارد. برای مثال FSH به‌عنوان فاکتور بقا در سلول‌های گرانولوزای پره‌آنترال است، درحالی‌که hCG آپوپتوز را در سلول‌های لوتئینی شده القا می‌کند [۱۲]. گنادوتروپین‌های هیپوفیز مهم‌ترین فاکتور بقا برای سلول‌های فولیکولی تخمدان هستند؛ زیرا تیمار با گنادوتروپین‌ها بیان فاکتورهای بقا موضعی را در فولیکول‌های تخمدانی افزایش می‌دهد. به‌طور ویژه گنادو-تروپین‌ها آپوپتوز سلول‌های تخمدانی را به‌وسیله فعالیت مسیر وابسته به cAMP و افزایش تولید فاکتورهای پاراکرین و اتوکرین مانند استروژن‌ها، Interleukin-1(IL-1)، نیتریک اکساید و IGF-1 مهار می‌کنند. این فاکتورها بقا سلول را از طریق فعالیت گیرنده هسته‌ای استروژن، مسیر وابسته به cGMP و فسفریلاسیون پروتئین تیروزین به‌ترتیب، پیش می‌برند [۱۷]. مشخص شده است که سلول‌های گرانولوزای جدا شده از فولیکول‌های کوچک، متوسط و بزرگ گاوی موقعی که در محیط کشت فاقد سرم کشت داده می‌شوند، آپوپتوز خودبه‌خودی را شروع می‌کنند. اما اضافه کردن FSH به محیط کشت، آپوپتوز را در فولیکول‌های کوچک و متوسط مهار می‌کند. همچنین، استفاده از ۱۰ ng/ml IGF-1 آپوپتوز را در سلول‌های گرانولوزای کشت شده از فولیکول‌های کوچک مهار کرده، اما غلظت بیشتر آن (۱۰۰ mg/ml) برعکس، آپوپتوز را تحریک می‌کند. استفاده از FSH این اثر تحریکی دوز بالای IGF-1 را ممانعت می‌کند. بدین‌ترتیب همراهی FSH و IGF-1 می‌تواند آپوپتوز را در سلول‌های گرانولوزای کشت شده گاوی کاهش دهد [۱۴،۱۳]. فاکتورهای پاراکرین و اتوکرین کنترل کننده مرگ سلولی تخمدان هورمون‌های استروئیدی تخمدان به-عنوان فاکتورهای اتوکرین هستند که ممکن است یک نقش مهم در کنترل مرگ سلولی تخمدان داشته باشند. استروژن به‌عنوان یک فاکتور بقا مهم، هم در جسم زرد و هم سلول‌های گرانولوزا عمل می‌کند. پروژسترون بقا سلول گرانولوزا را حفظ می‌کند. گلوکو-کورتیکوئیدها مانند هیدروکورتیزون و دگزامتازون هم به‌عنوان محافظت کننده بر علیه آپوپتوز مشخص شده‌اند. اگرچه مکانیسم اثر هورمون‌های استروئیدی مشخص نیست، اما می‌تواند از طریق افزایش ساخت Bcl-2 باشد [۱۴]. فاکتورهای رشد و ترکیبات ماتریکس خارج سلولی (ECM) که در غشاء پایه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

فولیکول مستقر هستند و همچنین سیتوکین‌ها از فاکتورهای پاراکرین کنترل کننده مرگ سلولی تخمدان هستند که مهار کننده و یا تحریک کننده تمایز سلول‌های گرانولوزا هستند. اغلب آنها یک اثر هم‌افزایی با تحریک گنادوتروپین‌ها برای استروئیدوژنز دارند. از میان ترکیبات غشاء پایه، لامینین که در حدود ۳۵ درصد غشاء پایه را تشکیل می‌دهد، روی زنده ماندن سلول‌های گرانولوزا اثر مثبت دارد، اما استروئیدوژنز را تحریک نمی‌کند. basic (bFGF) Fibroblast Growth Factor استروئیدوژنز را تحریک و آپوپتوز را مهار می‌کند. بدین‌ترتیب می‌توان گفت غشاء پایه به‌دلیل داشتن فاکتورهای بقا اثر محافظتی روی سلول‌های گرانولوزای نزدیک خود دارد و از فرآیند آپوپتوز جلوگیری می‌کند. فاکتور-های رشد مثل Epidermal Growth Factor (EGF)، IGF، انسولین و FGF از طریق گیرنده‌های وابسته به تیروزین کیناز رشد سلول‌های گرانولوزای نابالغ را پیش می‌برند، اما روی سلول‌های بالغ بیشتر اثر تمایزی داشته و استروئیدوژنز را افزایش می‌دهند [۱۴]. ازمجموع این مطالب مشخص می‌شود که سلول‌های تخمدان سیگنال‌های متضادی را برای بقا و مرگ دریافت می‌کنند و آنچه که تعیین‌کننده سرنوشت سلول‌ها در مراحل مختلف تکوین فولیکولی است، تعامل بین سیگنال‌های مختلف است.

استروئیدوژنز و آپوپتوز:

مطالعات نشان داده است که در طول ساعات اولیه بعد از القاء آپوپتوز در سلول‌های گرانولوزا، تولید پروژسترون برخلاف انتظار افزایش می‌یابد [۲۱،۱۴]. مطالعات میکروسکوپ الکترونی و ایمنوفلورسنس مشخص کرده است که میتوکندری تمامیت و ساختار ظریف خودش را حفظ می‌کند. میتوکندری دستگاه بیوشیمیایی مسئول برای تبدیل کلسترول به پروژسترون است [۲۲]. در مراحل اولیه آپوپتوز، جابه‌جایی میتوکندری به منطقه اطراف هسته و غیاب آن در حباب‌های آپوپتوتیک سبب ادامه فعالیت استروئیدوژنیک می‌شود. کلاستر شدن میتوکندری و قطرات لیپید در سلول‌های آپوپتوتیک ممکن است حتی کارآیی فرآیند استروئیدوژنیک را افزایش دهد. مشخص شده است که تا ۲۴ ساعت اول شروع تحریک آپوپتوتیک، استروئیدوژنز افزایش می‌یابد [۲۱]. حفظ میتوکندری در طول مراحل اولیه آپوپتوز غیرمعمول است؛ زیرا در سیستم‌های سلولی دیگر خیلی سریع تخریب شده و نشت سیتوکروم C به داخل سیتوپلاسم صورت می‌گیرد [۱۴]. این احتمال وجود دارد که در سلول‌های گرانولوزا انتقال یک سیگنال آپوپتوتیک می‌تواند میتوکندری را دور بزند [۱۴]. به‌نظر می‌رسد حداقل ۲ مسیر وجود دارد که آپوپتوز را در سلول‌های گرانولوزا تنظیم می‌کند. یکی از آن‌ها در عمل میتوکندری تداخل ایجاد می‌کند؛ مانند آپوپتوز القاء شده به‌وسیله p53 در شرایط استرس که سبب فعالیت Bax و آزادسازی سیتوکروم C می‌شود. مسیر دیگر برای آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا، مسیری است که میتوکندری را دور می‌زند. در این مسیر cAMP می‌تواند آپوپتوز را به‌وسیله فعالیت گرانزیم B القاء کند. گرانزیم B به‌وسیله پرفورین از گرانول‌های ثانویه آزاد می‌شود و به‌طور مستقیم سوبستراهای مرگ را می‌شکند. مشخص شده است که پروتئین گرانزیم B به‌طور تعجب‌آور تجمع یافته و به قطعات مولکولی فعال تبدیل می‌شود که می‌تواند به‌طور مستقیم یک آبشار کاسپازی را که تخریب میتوکندری را دور می‌زند، فعال کند [۲۲،۲۱]. تحقیقات بیشتری لازم است تا تعیین شود که کدام مسیر ابتدا شروع می‌شود؛ اما به‌نظر می‌رسد باتوجه به حفظ فعالیت استروئیدوژنز در سلول‌های گرانولوزا در مراحل اولیه آپوپتوز، مسیر دوم که تخریب میتوکندری را سبب نمی‌شود، ابتدا شروع می‌شود.

ژن‌های درگیر در آترزی فولیکولی:

یک گروه کلیدی فاکتورهای داخل سلولی تنظیم کننده آپوپتوز، پروتئین‌های خانواده Bcl-2 هستند. اعضای این خانواده به پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک (Bcl-2 و Bcl–xL) و پروتئین-های پروآپوپتوتیک (Bax و BAD) تقسیم می‌شوند. پروتئین‌های آنتی و پروآپوپتوتیک، مرگ سلولی را به‌وسیله اتصال به همدیگر و تشکیل هترودایمر تنظیم می‌کنند. برطبق این مدل بین اعضای خانواده آنتی و پروآپوپتوتیک Bcl-2 در هر سلول، تعادلی وجود دارد و تراکم نسبی این دو گروه از پروتئین‌ها تعیین می‌کند که آیا سلول باقی بماند یا آپوپتوز را تحمل کند. از بیش از ۱۵ عضو خانواده Bcl-2 در هر بافت یا سلول، تعدادی از آنها به‌طور ویژه بیان می‌شوند [۲۳]. برای بررسی این که آیا سیستم Bcl-2 در تنظیم آپوپتوز سلول تخمدانی در شرایط درون‌تنی مهم است موش‌های ترانس‌ژنیک که Bcl-2 در تخمدان آن‌ها بیش‌بیان شده بود، ایجاد شدند. در این موش‌ها مهار آپوپتوز سلول فولیکولار و افزایش فولیکولوژنزیس دیده شد که نشان‌دهنده این است که سیستم Bcl-2 در تخمدان عمل می‌کند [۲۴]. Choi و همکاران [۲۵] سطح بیان ژن‌های آپوپتوز وابسته به میتوکندری (p53، Bcl-2 و Bax) را در سلول‌های گرانولوزای کشت شده بررسی کردند؛ از بین ژن‌های وابسته به میتوکندری p53 دقیقا با آپوپتوز سلول-های گرانولوزا در طول مراحل تکوینی فولیکولی ارتباط داشت. Kim و همکاران [۲۶] طی مطالعه‌ای به درگیری سیستم

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

Fas/FasL و p53 در آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا در مراحل مختلف فولیکولی پرداختند. این تحقیق نشان داد که تغییر در محتوای پروتئین p53 سلول‌های گرانولوزا در طول تکوین با بیان Fas همراه است. همچنین بیش‌بیان ژن p53 در شرایط برون‌تنی سبب افزایش در محتوای پروتئین Fas و آپوپتوز شدید می‌شود. Deplao و همکاران [۲۷] با روش ایمنوهیستوشیمی فعالیت Bcl-2 را در ۷۵ درصد فولیکول‌های ثانویه انسان مشاهده کردند، اما p53 در همه نمونه‌ها منفی بود. بدین‌ترتیب، می‌توان گفت Bcl-2 سبب فرار سلول‌ها از فرآیند آپوپتوز می‌شود. منفی بودن p53 نشان‌دهنده این است که ژنوم در سلول‌های فولیکولار زنان در سن تولید مثلی تمامیت خود را حفظ می‌کند. در این مطالعه رنگ‌آمیزی TUNEL در ۲۳/۴ درصد فولیکول‌های بدوی و ۲۳/۲ درصد فولیکول‌های اولیه هم در تخمک و هم در گرانولوزا مثبت بود، در-حالی‌که در همه فولیکول‌های ثانویه منفی بود. Zeuner و همکاران [۲۸] آپوپتوز را در اجزاء مختلف فولیکول‌های آنترال گاو بررسی کردند. فولیکول‌ها براساس مورفولوژی به ۳ گروه تقسیم شدند؛ فولیکول‌های درجه I بهترین مورفولوژی را داشتند. در تمام اجزاء سه گروه فولیکولی یعنی سلول‌های کومولوس، سلول‌های گرانولوزای آزاد در مایع فولیکولی و سلول‌های دیواره فولیکولی (تکا و گرانولوزای مجاور غشاء پایه) آپوپتوز مشاهده شد. فقط در سلول‌های کومولوس تعدادی از فولیکول‌های درجه I و II آپوپتوز مشاهده نشد. می‌توان گفت احتمالا در هر زمان درجه خاصی از سلول‌های آپوپتوتیک درون فولیکول وجود دارد؛ فقط موقعی که به حد آستانه برسد، می‌تواند روی بقا تخمک تأثیرگذار باشد. Johnson و همکاران در سال ۲۰۰۲ [۲۹] به بیان Survivin در سلول‌های گرانولوزای مرغ پرداختند. Survivin یکی از اعضای خانواده پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز (IAPs) است [۳۰]. Tringler و همکاران [۳۱] در سال ۲۰۰۴ بیان survivin را با روش ایمنوهیستوشیمی در تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تخمدان نشان دادند. XY و همکاران در سال ۲۰۰۴ [۳۲] بیان بیشتر survivin را در کارسینومای اپی‌تلیال تخمدانی نسبت به تومور خوش‌خیم و تخمدان طبیعی و همچنین ارتباط آن را با بیان Fas/FasL نشان دادند. براساس نتایج این تحقیق survivin در تخمدان طبیعی بیان نشده بود. در تحقیقی که Slot و همکاران [۳۳] در سال ۲۰۰۶ انجام دادند، بیان و توزیع پروتئین‌های Fas، FasL، Bcl-2، Bax و کاسپاز ۳ را در حالت فعال و غیرفعال در سرتاسر سیکل تخمدانی موش صحرایی بررسی کردند. نتایج تحقیق نشان داد که در بافت تخمدانی در سرتاسر سیکل تخمدانی این پروتئین‌ها بیان می‌شوند. ایمنوهیستوشیمی هم پروتئین آنها را نشان داد، اما مقدار این پروتئین‌ها در فازهای مختلف سیکل تخمدانی متفاوت بود. پروتئین‌های Bax، Fas و کاسپاز ۳ در دی-استروس بالاترین حد بود و به‌طرف مت‌استروس کاهش می‌یافت. برعکس سطح پروتئین FasL، Bcl-2 در دی‌استروس پایین‌ترین حد بود و به طرف مت‌استروس افزایش می‌یافت. همچنین، در مقاطع بافتی توزیع این پروتئین‌ها در فولیکول‌های مختلف مقایسه شد. پروتئین Fas، FasL و Bax بیشتر در سلول‌های تکای فولیکول‌های آترتیک آنترال و پره‌آنترال دیده شد، درحالی‌که پروتئین Bcl-2 در حد متوسط در سلول‌های گرانولوزا و تکای فولیکول‌های پره‌آنترال و آنترال سالم دیده شد. همچنین، پروتئین Fas و FasL در سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های پره‌آنترال سالم مشاهده نشد. مازوچی و همکاران [۳۴] در سال ۲۰۰۹ بیان نیمه‌کمی ژن‌های Bax، p53، Fas، FasL، Survivin و Bcl-2 را در فولیکول‌های پره‌آنترال و آنترال تخمدانی نشان دادند. Glamoclija و همکاران [۳۵] در سال ۲۰۰۵ به بررسی آپوپتوز و بیان شکل فعال کاسپاز ۳ در بافت‌های تخمدانی زنانی که تخمدان آن‌ها به دلایلی خارج شده بود و همچنین سلول‌های گرانولوزای فولیکولی زنانی که برای IVF مراجعه کرده بودند، پرداختند. در بافت تخمدان انسان در فولیکول‌های بدوی و اولیه با رنگ‌آمیزی TUNEL آپوپتوزی مشاهده نشد. همچنین، آپوپتوز فقط در سلول‌های گرانولوزای فولیکولی آنترال آترتیک دیده شد. سلول-های گرانولوزا براساس ظاهر مورفولوژیک به سالم و آپوپتوتیک تقسیم شدند. همه سلول‌های گرانولوزای با مورفولوژی آپوپتوز کاسپاز ۳ فعال را بیان می‌کردند، اما با روش TUNEL مقدار کمی DNA قطعه‌قطعه شده مشاهده شد. تعداد زیادتر سلول‌های گرانولوزای مثبت برای کاسپاز ۳ نسبت به TUNEL پیشنهاد می-کند که فعالیت کاسپاز ۳ در مقایسه با قطعه‌قطعه شدن DNA زودتر اتفاق می‌افتد و همچنین یک پدیده طولانی‌تر است. نتایج تحقیق نشان داد که در سلول‌های گرانولوزای انسان آپوپتوز وابسته به کاسپاز ۳ اتفاق می‌افتد و موقعی که فولیکول‌ها رشد خود را آغاز می‌کنند، کاسپاز ۳ به شکل فعال در می‌آید. بعد از تشکیل اولیه آنتروم، فعالیت کاسپاز ۳ یک فرآیند طبیعی فیزیولوژی برای اترزی و لوتئینه شدن فولیکول‌ها است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به اینکه آپوپتوز در طیف وسیعی از وقایع تخمدانی ازجمله حذف سلول‌های زایا قبل از تولد، آترزی فولیکولی و حذف جسم زرد دخیل می‌باشد، در ذخیره فولیکولی و باروری موثر است. در مجموع از مطالعه مقالات مشخص می‌شود

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

که تعامل بین سیگنال‌های مختلف عامل تعیین‌کننده سرنوشت فولیکول‌های تخمدانی است. از آنجایی‌که القاء و اجرای حوادث آپوپتوتیک به‌وسیله چندین مسیر سیگنالینگ به‌قوع می‌پیوندد، محققین درصدد هستند که این مسیرها را در آترزی فولیکولی مشخص نمایند. مسیر وابسته به میتوکندری یکی از مهم‌ترین مسیرهای آپوپتوز است که طی آن سیتوکروم C به‌سرعت از میتوکندری به داخل سیتوزول آزاد می‌شود. چندین ژن مانند p53، Bax و Bcl-2 مثبت و یا منفی با آزاد شدن سیتوکروم C ارتباط دارند. آزاد شدن سیتوکروم C کاسپاز ۳ را فعال می‌کند و عقیده بر این است که مجری نهایی مرگ سلولی، آپوپتوز، است.

ازآنجایی‌که سلول‌های گرانولوزا محل اولیه آپوپتوز در طول آترزی فولیکولی شناخته شده‌اند، بررسی ژن‌های وابسته به میتوکندری در این سلول‌ها در مراحل مختلف فولیکولی می‌تواند الگوی آپوپتوز را مشخص نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله برخود لازم می‌دانند از زحمات تمامی عزیزانی که در گردآوری مقالات ما را یاری کردند، سپاسگزاری نمایند.

References:

[1] Johnson AL. Intracellular mechanisms regulating cell survival in ovarian follicles. ***Anim Reprod Sci*** 2003; 78(3-4): 185-201.

[2] Rossi V, Lispi M, Longobardi S, Mattei M, Di Rella F, Salustri A, et al. LH prevents cisplatin-induced apoptosis in oocytes and preserves female fertility in mouse. ***Cell Death Differ*** 2017; 24(1): 72–82.

[3] Dong Z, Huang M, Liu Z, Xie P, Dong Y, Wu X, et al. Focused screening of mitochondrial metabolism reveals a crucial role for a tumor suppressor Hbp1 in ovarian reserve. ***Cell Death Differ*** 2016; 23(10): 1602–14.

[4] Li J, Gao H, Tian Z, Wu Y, Wang Y, Fang Y, et al. Effects of chronic heat stress on granulose cell apoptosis and follicular atresia in mouse ovary. ***J Animal Sci Biotechnol*** 2016; 7(1): 57.

[5] Hsu SY, Hsueh AJ. Tissue specific Bcl-2 protein partners in apoptosis: an ovarian paradigm. ***Physiol Rev*** 2000; 80: 593-614.

[6] Mazoochi T, Salehnia M. Rezazadeh Valojerdi M, Mowla SJ. Morphologic, ultrastructural, and biochemical identification of apoptosis in vitrified-warmed mouse ovarian tissue. ***Fertil Steril*** 2008; 90(4): 1480-6.

[7] Yang MY, Rajamahendran R. Morphological and biochemical identification of apoptosis in small, medium and large bovine follicles and the effects of FSH and IGF-1 on spontaneous apoptosis in cultured bovine granulosa cells. ***Boil Reprod*** 2000; 62(5): 1209-17.

[8] Kaipia A, Hsueh AJ. Regulation of ovarian follicle atresia. ***Anna Rev Physiol*** 1997; 59: 349-63.

[9] Johnson AL, Bridgham JT. Caspase- mediated apoptosis in the vertebrate ovary. ***Reproduction*** 2002; 124(1): 19-27.

[10] Uma J, Muraly P, Verma-kumar S, Medhamurthy R. Determination of onset of apoptosis in granulosa cells of the preovulatory follicles in the bonnet monkey. ***Biol Reprod*** 2003; 69(4): 1379-87.

[11] Hsueh AJ, Billig H, Tsafriri A. Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. ***Endocr Rev*** 1994; 15(6): 707-24.

[12] Aharoni D, Dantes A, Oren M, Amsterdam A. cAMP mediated signals as determinants for apoptosis in primary granulosa cells. ***Exp Cell Res*** 1995; 218(1): 271-82.

[13] Yang MY, Rajamahendran R. Morphological and biochemical identification of apoptosis in small, medium and large bovine follicles and the effects of FSH and IGF-1 on spontaneous apoptosis in cultured bovine granulosa cells. ***Boil Reprod*** 2000; 62(5): 1209-17.

[14] Amsterdam A, Gold RS, Hosokawa K, Yoshida Y, Sasson R, Jung Y, et al. Crosstalk among multiple signaling pathways controlling ovarian cell death. ***Trends Endoctinal Metab*** 1999; 10(7): 255-62.

[15] Kim JM, Yoon YD, Tsaong BK. Involvement of the fas/fasL system in p53-mediated granulosa cell apoptosis during follicular development and atresia. ***Endocrinology*** 1999; 140(5): 2307-17.

[16] Hughes F, Gorospe W. Biochemical identification of apoptosis. ***Endocrinology*** 1991; 129(5): 2415-22.

[17] Hsu SY, Hsueh AJ. Hormonal Regulation of Apoptosis: An ovarian perspective. ***TEM*** 1997; 8(5): 207-13.

[18] Tilly JL. The Molecular Basis of ovarian Cell death during germ attrition, follicular atresia, and luteolysis. ***Front Biosci*** 1996; 1: 1-11.

[19] Mazoochi T, Khamechian T, Ehteram M, Kashani HH. The effect of melatonin on expression of p53 and ovarian preantral follicle development isolated from vitrified ovary. ***Comparative Clin Pathol*** 2018; 27(1): 83-88.

[20] Ghafari F, Rajabi MR, Mazoochi T, Taghizadeh M, Nikzad H, Atlasi MA. Comparing apoptosis and necrosis effects of Arctium lappa root extract and doxorubicin on MCF7 and MDA-MB-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

231 cell lines. ***Asian Pacific J Cancer Prevention*** 2017; 18(3): 795.
[21] Amsterdam A, Sasson R, Keren-Tal I, Aharoni D, Dantes A, Rimon E, et al. Alternative pathways of ovarian apoptosis: death for life. ***Biochem Pharmacol*** 2003; 66(8): 1355-62.
[22] Keren-Tal I, Suh BS, Dantes A, Lindner S, Oren M, Amsterdam A. Involvement of p53 expression in cAMP mediated apoptosis in immortalized granulosa cell. ***Exp Cell Res*** 1995; 218(1): 283-95.
[23] Hussein MR. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. ***Hum Reprod Update*** 2005; 11(12): 162-77.
[24] Leo CP, Hsu SY, Chun SY, Bae HW, Hsueh AJ. Characterization of the antiapoptotic Bcl-2 family member Mcl-1 and the stimulation of its message by gonadotropins in the rat ovary. ***Endocrinology*** 1999; 140(12): 5469-77.
[25] Choi D, Hwang S, Lee E, Yoon S, Yoon B, Bae D. Expression of mitochondria dependent apoptosis genes (p53, Bax, Bcl-2) in rat granulosa cells during follicular development. ***J Soc Gynecol Investig*** 2004; 11(5): 311-7.
[26] Kim JM, Yoon YD, Tsaong BK. Involvement of the fas/fasL system in p53-mediated granulosa cell apoptosis during follicular development and atresia. ***Endocrinology*** 1999; 140(5): 2307-17.
[27] Depalo R, Nappi L , Loverro G, Bettocchi S, Caruso ML, Valentini AM, et al. Evidence of apoptosis in human primordial and primary follicles. ***Hum Reprod*** 2003; 18(12): 2678-82.
[28] Zeuner A, Muller K, Reguszynski K, Jewgenow K. Apoptosis within bovine follicular cells and its effect on oocyte development during in vitro maturation. ***Theriogenology*** 2003; 59(5): 1421-33.
[29] Johnson AL, langer JS, Bridgham JT. Survivin as a cell cycle - related and antiapoptotic protein in granulosa cells. ***Endocrinology*** 2002; 143(9): 3405-13.
[30] Eslami M, Khamechian T, Mazoochi T, Ehteram H, Sehat M, Alizargar J. Evaluation of survivin expression in prostate specimens of patients with prostate adenocarcinoma and benign prostate hyperplasia underwent transurethral resection of the prostate or prostatectomy ***SpringerPlus*** 2016; 5(1): 621.
[31] Tringler B, Lehner R, Shroyer Al, Shroyer KR. Immunohistochemical localization of survivin in serous tumor ovary. ***Appl Immunohistochem Mol Morphol*** 2004; 12(1): 40-3.
[32] Ma XY, He FX, Wu SF, Lu YP, Ma D. Expression of survivin in ovarian epithelial carcinoma and its correlation with expression of Fas and FasL. ***Ai Zheng*** 2004; 23(2): 173-76.
[33] Slot KA, Voorendt M, Boer-Brouwer M, Van Vugy HH, Teerds KJ. Estrous cycle dependent changes in expression and distribution of Fas, Fas ligand, Bcl-2, Bax, and pro- and active caspase-3 in the rat ovary. ***J Endocrinol*** 2006; 188(2): 179-92.
[34] Mazoochi T, Salehnia M, Pourbeiranvand S, Forouzandeh Mb, Mowla SJ, Hajizadeh E. Analysis of apoptosis and expression of genes related to apoptosis in cultures of follicles derived from vitrified and non-vitrified ovaries. ***Mol Hum Reprod*** 2009; 15(3): 155-64.
[35] Glamoclija V, Vilovic K, Saraga-Babic M, Baranovic A, Sapunar D. Apoptosis and active caspase-3 expression in human granulosa cells. ***Fertil Steril*** 2005; 83(2): 426-31.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]