



The role of epigenetics in spermatogenesis

Epigenetiğin spermatogenezdeki rolü

Sezgin Güneş, Tuba Kulaç

ABSTRACT

Male germ cells have a unique morphology and function to facilitate fertilization. Sperm deoxyribonucleic acid (DNA) is highly condensed to protect the paternal genome during transfer from male to oocyte. Sperm cells undergo extensive epigenetic modifications during differentiation to become a mature spermatozoon. Epigenetic modifications, including DNA methylation, histone modifications, and chromatin remodeling are substantial regulators of spermatogenesis. DNA hypermethylation is associated with gene silencing. Meanwhile, hypomethylation is associated with gene expression. In sperm cells, promoters of developmental genes are highly hypomethylated. Proper DNA methylation is essential for embryo development. Histone modifications are chemical modifications that change the DNA-binding capacity of histones and the accessibility of regulatory factors to the DNA, thereby altering gene expression. Phosphorylation, methylation, acetylation, and ubiquitination are primary modifications of lysine and serine residues on histone tails. In addition to somatic histones, testis-specific histone variants are expressed, including histone H2B in mature sperm. The replacement of histones with protamines is a crucial step in spermatogenesis. Histone hyperacetylation induces a loose chromatin structure and facilitates topoisomerase-induced DNA strand breaks. As a result, histones are replaced with transition proteins. Next, the transition proteins are replaced with protamines that induce compaction of sperm DNA. This review provides an overview of epigenetic changes during spermatogenesis.

Key words: Chromatin remodeling; DNA methylation; epigenetics; histone modification; spermatogenesis.

ÖZET

Erkek germ hücreleri, fertilizasyonu gerçekleştirebilmek için özgün morfoloji ve işleve sahiptir. Sperm deoksiribonükleik asiti (DNA), erkekten oosite taşınması sırasında genomun korunması amacıyla yüksek derecede sıkılaştırılmıştır. Sperm hücreleri, maturasyon için farklılaşırken yaygın epigenetik modifikasyonlara uğrarlar. DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kromatin yeniden düzenlenmesi gibi epigenetik modifikasyonlar spermatogenezin önemli düzenleyicileridir. DNA hipermetilasyonu gen susturulması ile ilişkili iken, DNA hipometilasyonu gen ifadesinin artışı ile ilişkilidir. Sperm hücrelerinde gelişimsel genlerin promotorları ileri derecede hipometilelidir. Uygun DNA metilasyonu embriyo gelişimi için gereklidir. Histon modifikasyonları, histonların DNA'ya bağlanma kapasitelerini ve düzenleyici faktörlerin DNA'ya erişebilirliğini değiştirerek gen ifadesinin de değişimine neden olmaktadır. Fosforilasyon, metilasyon, asetilasyon ve ubiquinasyon histon kuyruklarında yer alan lizin ve serin rezidülerinin primer modifikasyonlarıdır. Mature spermde somatik hücrelerde bulunan histonların yanında testise özgü histon H2B gibi testise özgü histon varyantları da bulunmaktadır. Spermatogenezde histonların protaminlerle yer değiştirmesi kritik basamaktır. Histonların hiperasetilasyonu, kromatin yapısını gevşeterek topoizomazlarca indüklenen DNA zincir kırıklarına yol açar böylece histonların geçiş proteinleri ile yer değiştirmesi kolaylaştırılmaktadır. Geçiş proteinlerinin protaminlerle yer değiştirmesi sperm DNA'sının sıkıca paketlenmesine yol açmaktadır. Bu derleme spermatogenez sırasında gerçekleşen epigenetik değişimleri tanıtmaktadır.

Anahtar sözcükler: DNA metilasyonu; epigenetik; histon modifikasyonu; kromatin yeniden düzenlenmesi; spermatogenez.

Department of Medical
Biology, Faculty of Medicine,
Ondokuz Mayıs University,
Samsun, Turkey

Submitted:
01.02.2013

Accepted:
30.04.2013

Correspondence:
Sezgin Güneş
Department of Medical Bio-
logy, Faculty of Medicine, On-
dokuz Mayıs University, 55139
Samsun, Turkey
Phone: +90 362 312 19 19-3164
E-mail: sgunes@omu.edu.tr

©Copyright 2013 by Turkish
Association of Urology

Available online at
www.turkishjournalofurology.com

Epigenetik, mitotik ve/veya mayotik olarak kalıtılabilen ancak DNA dizilerinde değişim olmaksızın gen anlatımını değiştiren stabil değişikliklerdir.^[1] Eski Yunanca'da, epi- ön eki üstünde, üzerinde, ötesinde anlamını taşımaktadır. Bundan dolayı adı genetiğin üzerinde ya da ötesinde anlamına gelmektedir.

Epigenetik mekanizmalar, organizmanın yaşamı boyunca gelişimin farklı evrelerinde, replikasyon ve gen ekspresyonu esnasında düzenleyici rolü olan çok çeşitli proteinlerin DNA ile etkileşimini düzenlemektedir. Her hücre çeşidi kendine özgü olan epigenetik imzaya sahiptir. Bu imza canlının gelişim

öyküsünü ve çevresel etkilerini, hücre ve organizmanın fetotipinde yansıtır.^[2]

Epigenetik değişiklikler, DNA'nın paketlenmesinde görev yapan histon proteinleriyle DNA'nın bir dizi moleküler modifikasyonlarını kapsar. DNA, histon proteinlerinin çevresini sararak nükleozom adı verilen kromatinin temel yapısal birimini oluşturur. DNA metilasyonu, histon ve kromatin modifikasyonlarıyla gen ifadesini farklı zaman ve çevre koşullarında kontrol eder.^[3,4] Gelişim sırasında germ hücrelerinin epigenetik profili değişmektedir.^[5,6] İmplantasyon sonrası embriyo döneminde, epiblasttaki pluritent hücreler primordial germ hücrelerinin (PGC) gelişimini sağlar. Kadınlarda PGC'leri mayoz I'in profazında baskılanırken, erkeklerde mitotik duraksamaya girer. Germ hücrelerinin epigenetik profilleri mayozun farklı aşamalarında değişime uğrar.^[7]

Bu derlemede spermatogenez sırasında sperm DNA'sı metilasyonu, sperm histon modifikasyonları ve sperm kromatin modifikasyonları gözden geçirilecektir.

1. Sperm DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu, CpG adacığında bulunan sitozin nükleotidinin pirimidin halkasının 5. karbonuna bir metil grubunun eklenmesiyle meydana gelen biyokimyasal işlemdir.^[8] CpG adacıkları yaklaşık 500 bp uzunluğundaki genomik bölgeler olup yüksek sıklıkta CG dinükleotidlerini (CG/GC >%55) bulundurlur.^[9] Bu diziler memeli genlerinin yaklaşık %40'ının promotor bölgesinde yer alır. Promotor bölgesinde yer alan ve CpG adacıklarında görülen DNA metillenmesi transkripsiyon transkripsiyon düzeyinde kalıtlabilir susturmaya yol açar. CpG adacıklarında görülen DNA metillenmesi, gen ifadesinin kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Gen ifadesinin düzenlenmesinde, özellikle genlerin promotor bölgelerindeki metillenme, transkripsiyon faktörlerinin tanıma bölgelerinde değişiklikler meydana getirerek bu faktörlerin bağlanmasını engellemektedir. Bu şekilde gen ifadesinin baskılanmasında rol oynamaktadır.^[10]

DNA metilasyonu, DNA metiltransferaz (DNMT) enziminin etkisiyle meydana gelir. DNA metil transferazdan biri [bir DNMT1, bir DNMT2, üç DNMT3 (DNMT3a/3b ve DNMT3L)] S-adenozil metiyoninden bir metil grubunun sitozine transferini kataliz etmektedir.^[10] DNMT1, DNA replikasyonu sırasında DNA metilasyon motifinin devamından sorumludur ve bakım metiltransferazı olarak adlandırılmaktadır. DNMT3'ler metillenmemiş sitozinlerin metilasyonuna *de novo* olarak aracılık etmekte ve erken embriyonik gelişim döneminde genomik DNA'yı metillemektedir. DNMT2'nin rolü tam olarak açıklanamamakla birlikte tRNA metiltransferazı olarak etki edebileceği önerilmektedir.^[10-12] Kazanılan değişiklikler devamlı ve kalıcıdır.^[4,13] Hipometilasyon ve hipermetilasyon genomun farklı bölgelerinde kendiliğinden meydana gelebilir.^[14]

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada insanın ve şempanzenin sperm metilasyon haritaları belirlenmiştir. Bu çalışmada gelişimden sorumlu genlerin promotorlarını hipometile olduklarını ve somatik hücrelerin promotorları ile karşılaştırıldığında daha güçlü hipometilasyon gösterdikleri bildirilmiştir. Ayrıca sperm genomundaki tekrar bölgelerinin yüksek derecede metilasyon gösterirken, transpozonların daha zayıf metilasyon gösterdikleri belirlenmiştir.^[15]

2. Sperm Histon Modifikasyonu

Histonlar, ökaryotik hücrelerin çekirdeğinde yer alan ve DNA'nın nükleozomlar halinde paketlenmesini sağlayan, lizin ve arjinine zengin olan bazik proteinlerdir. H2A, H2B, H3 ve H4 histon proteinleri nükleozomun çekirdek bölümünde yer almaktadırlar. Nükleozomlar, iki H3-H4 dimeri ve iki H2A-H2B dimerinin birleşmesiyle oluşan oktametik yapıdaki proteinleri içerir ve birbirlerine H1 histonlarıyla bağlanırlar.^[16] Histonlar, basit kimyasal modifikasyonlarla DNA'nın bağlanma ve diğer düzenleyici faktörlerin DNA ile etkileşebilme özelliklerini değiştirerek, gen aktivasyonunda da değişimine yol açmaktadırlar. Histon modifikasyonları özgül enzimlere bağlıdır.^[17] Histon modifikasyonları asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ubikinsyon ile gerçekleştirilir. Genel olarak, histon H3 ve H4'ün asetilasyonu açık kromatin yapısına, transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını kolaylaştıran aktif transkripsiyona yol açmaktadırlar.^[18] Deasetilasyon ise transkripsiyonun inaktivasyonu ile ilişkili olup ve genel olarak metilasyon ile korelasyon göstermektedir. Genel olarak histon asetilasyonu transkripsiyonun aktif olduğu bölgelerde görülürken, hiposetile histonlar ise inaktif ökromatin ve heterokromatin bölgelerde yer alır.^[19] Bir diğer düzenleyici mekanizma da histon kuyruklarındaki lizinin metilasyonudur. Histon kuyruklarındaki lizinin serine değişimi gibi kimyasal değişimler metilasyon, asetilasyon ve ubikinsyon ile gerçekleştirilmektedir.^[20,21] H3K9 ve H3K27 histonları genellikle inaktivasyonla ilişkilidir.^[22] Histonların metilasyonu ise hem aktif hem de inaktif kromatin bölgelerinde yer almaktadır. Histon H3'ün amino terminalindeki 9. lizinin metilasyonu (H3-9K) DNA'nın sessizleştirmesine yol açmakta ve heterokromatik bölgelere yayılmaktadır. Diğer yandan, histon H3 proteininin 4. lizinin (H3-4K) metilasyonu aktivasyonla ilişkili olup ağırlıklı olarak aktif genlerin promotor bölgelerinde yer almaktadır. Spermatogenez sırasında histonların kuyruklarının metilasyonu H3-K4 ve H3-K9 metiltransferaz tarafından gerçekleştirilmektedir.^[23]

H3 ve H4 histon proteinlerinin kuyrukları arasındaki modifikasyonlar etkileşime neden olmaktadır. Bunların bir bölümü histon kodu olarak adlandırılan, aktif ve inaktif kromatin dönüşümünü tersinir bir mekanizma ile düzenler.^[24]

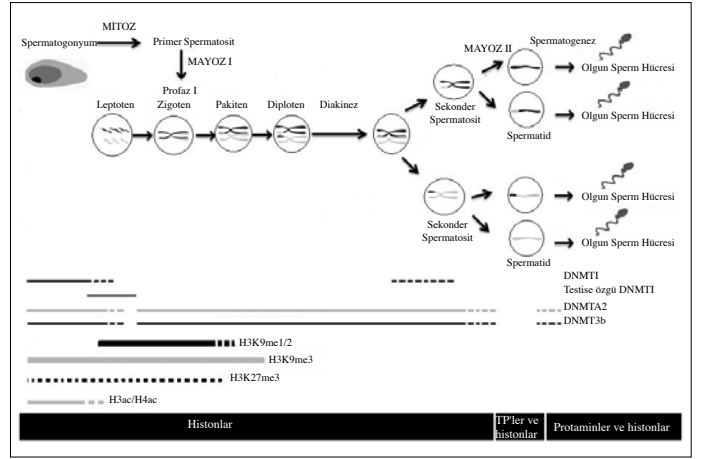
Premayotik PGC'ler ve spermatogonia, özgün histon H3K9me3 modifikasyonu modelini gösterir.^[25,26] Ancak, erkek germ hücre-

lerinde mayozun başlamasıyla bu modeller değişirler (Şekil 1).^[27] Histon modifikasyonu ve kompozisyonundaki değişiklikler hatasız mayoz ve sonrasında gametlerin maturasyonunda gereken kromatin modifikasyonlarında önemli rol almaktadır.^[6] Hem kadın hem erkek gamet hücreleri mayoz sonrası gelişimsel değişikliklere uğrarlar. X kromozomu üzerindeki bazı histonlar histonlar H3K9me2 işaretleyerek alıkoymasına rağmen haploid spermatidlerde global yeniden modellenme düşüktür.^[28,29] Testiste, H2A, H2B, H3 ve H1'in varyantları ifade edilmektedir. Standart histonlara nazaran, histon varyantların stabiliteyi daha düşüktür.^[30] Testiste, testise özgü histon varyantlarının yanı sıra somatik histon varyantları da ifade edilmektedir. Mature spermde en fazla bulunan histon varyantı testise özgü histon H2B'dir.^[31] Testise özgü histon H2B açısından zengin olan bölgeler iyon kanalları ve spermatogenezde görev alan genleri kapsarken, gelişimden sorumlu genleri içermemektedir. Testise özgü H1T2 bağlayıcı histon varyantı spermatogenez sırasında kromatin kondensasyonunda önemli role sahiptir.^[32] Belirli hücre tiplerinde bulunan histon varyantı H2AZ'nin ise perisentromerik heterokromatin bölgelerinde yoğunlaştığı immunohistokimyasal çalışmalarda gösterilmiştir.^[33,34] H3K4me3'ün yoğunlaştığı bölgeler spermatogenezle ilişkili genler iken H3K4me2 ise gelişimden sorumlu genlerinin zengin olduğu genlerde bulunmaktadır. Histon H4'ün hiperasetilasyonu haploid spermatidlerin histon protamin değişiminden sorumludur. H1s1 bağlayıcı histon varyantı (hitone-1-like protein in spermatids 1) uzayan spermatidlerde ifade edilir.^[35,36] Sonuç olarak, histon paketlenmesi spermatogenez için hem evrimsel hem de gelişimsel bir işlemdir.^[33]

Bu iki epigenetik düzenleyici mekanizma, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu, gen ekspresyonunda birbiriyle sıkı şekilde ilişkilidir. Gen ekspresyonunun başarılı epigenetik kontrolü sıklıkla her iki mekanizmanın işbirliği ve etkileşimine ihtiyaç duyar.^[1]

3. Spermiyogenez Sırasında Kromatin Modifikasyonu

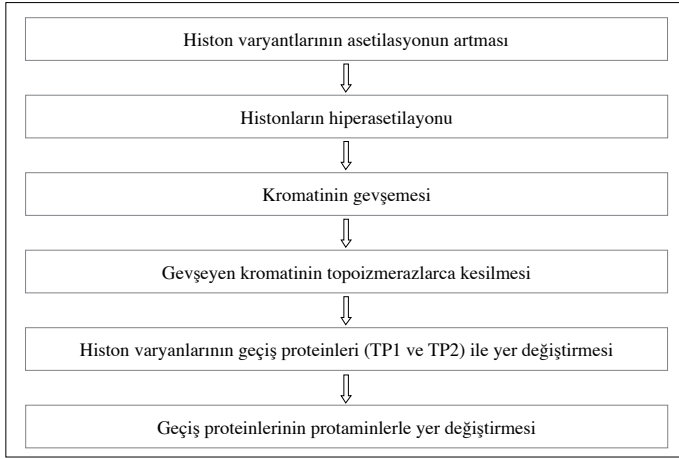
Fertilizasyon, sperm dışı üreme sistemi boyunca hareket etmesini, zona pellusidaya bağlanmasını ve oosit içine penetrasyonu gibi birçok olayı gerektirmektedir.^[37] Bu aşamaların başarılabilmesi için sperm hücresinde histonların %90-95'inin protaminlerle yer değiştirmesini gerektiren çarpıcı değişiklikleri kapsayan düzenlenme meydana gelir.^[38] Protaminler arjinince zengin, çekirdek içerisinde yer alan ve spermatogenezin ileri evrelerinde sentezlenen küçük proteinlerdir.^[39] Sperm kromatinin protaminasyonu, sperm motilitesi için gereken nükleusun sıkıştırılmasını kolaylaştırırken, sperm genomunu oksitlenmekten ve dışı üreme sistemi içerisindeki zararlı moleküllerden de korur. Protaminasyon sonrası DNA'nın ileri derece paketlenmesi transkripsiyonu engellemektedir. Protaminasyon, sperm hücrelerine özgü epigenetik düzenlenmedir.^[38] Fertilizasyon



Şekil 1. Spermatogenez ve spermatogenezdeki epigenetik değişiklikler

öncesinde mature sperm taşıdığı paternal haploid genom protaminlerle sıkıca paketlenirken, metafaz II'de baskılanan maternal genom histon proteinleri ile paketlenir. Fertilizasyon sonrasında protaminler hızlıca histonlarla yer değiştirmekte ve oosit metafaz II'yi tamamlayarak polar body atılmaktadır. Paternal kromatinde yer alan H3 ve H4 histonları maternal kromatin ile karşılaştırıldığında daha fazla asetillenmektedir.^[40,41]

Sperm DNA'sının paketlenmesini sağlayan histon proteinlerinin protaminlerle değişim mekanizması hala tam olarak olmasa da bazı aşamaları anlaşılabilmiş çok basamaklı işlemdir. Erken değişim olayları, spermatogenez sırasında ifade edilen seçilmiş histonların, histon varyantları yer değiştirmesini kapsamaktadır. Mature spermde en fazla bulunan histon proteini testise özgü histon 2B olup ekspresyonundaki benzersiz bir özelliği nedeniyle ilgi çekicidir. İlgi çekici olmasının nedeni 3' uçta polia-denilasyona uğramaması ve sperm kromozomlarının telomer kısımlarında lokalize olmasıdır.^[42] Bazı histonların, varyantlarıyla yer değiştirmesinin sonucu olarak histonların asetilasyonu artar. Asetilasyon, asetilaz ve deasetilazlarca düzenlenmektedir. Histonların hiperasetilasyonu kromatin yapısının gevşemesine yol açmaktadır. Gevşek kromatin yapısı topoizomeras kaynaklı zincir kırıklarını uyarak histonların ayrılmasını ve geçiş proteinleri (Transition proteins: TP) ile yer değiştirmesini kolaylaştırmaktadır.^[43,44] Hiperasetilasyon histonların protamin değişimi ile sonuçlanan olaylar zincirini tetikler.^[45] Geçiş proteinleri 1 ve 2 orta derecede bazik özellik gösteren nonhiston proteinlerdir, spermatogenezin 12 ve 13. evrelerinde bulunurlarken 14. evresinde ortamdan ayrılırlar.^[30] Bu proteinler DNA'ya bağlanarak, histonların ayrılmasını ve sonrasında yer alan protamin ile sıkıştırma evresi için kritik öneme sahiptir.^[46] TP'ler daha sonra tamamen protaminlerle yer değiştirir. İnsanda yaklaşık olarak eşit oranda ifade edilen iki protamin (P1 ve P2) bulunmaktadır. TP ve protamin eksprese eden genler önemli ölçüde örtüşmektedir (Şekil 2).^[47] Aynı zamanda bu proteinler



Şekil 2. Sperm kromatininde yer alan histonların protaminlerle yer değiştirmesi

benzersiz bir translasyonel düzenlenme mekanizmasına sahiptir.^[48] Bu önemli translasyon sonrası mekanizma, uygun kromatin kondensasyonu için gereken fosforilasyonu içermektedir.^[49] Geçiş proteinlerinden birinin nakavt edildiği farelerde, diğer geçiş proteini ile yetersiz de olsa protamin ile DNA paketlenme işlemi yapılabilmesine rağmen bu farelerin infertil olduğu gözlenmiştir.^[50] Histonların, protaminle değişimleri sonrasında parçalanmaktadır. Protaminlerin sperm kromatinine katılması, DNA'nın daha sıkı paketlenmesini indüklemektedir. Böylece spermatozoanın şekil alması ve transfer işlemi sırasında genom için güvenilir koşullar oluşturulması sağlanır. Oakes ve ark.'ları^[51] genom boyunca DNA metilasyonunun özelliklerinin spermiogenez sırasında pakitten sonra az değiştiğini bildirmiştir. Fertil erkeklerde P1/P2 protaminlerinin oranı bire eşittir. Protamin transkriplerinin yanlış işlenmesi, subfertilite ile ilişkilendirilen immature P2 prekürsörlerinin artmasına yol açar.^[52,53] Subfertilite aynı zamanda P1/P2 oranlarının bozulmasıyla ilişkilidir.^[38,54] Yayınlanan çelişkili çalışmalar bulunmasına rağmen protamin oranındaki sapmalar, azalan sperm sayısı ve işlevi, IVF'te düşük embriyo kalitesi gibi çok farklı fenotiple ilişkilendirilmiştir.^[48,55,56] Ayrıca yapılan çalışmalar, ejakülatta ortalama P1/P2 oranının farklı dönemlerde değiştiği tespit edilmiştir.^[57,58] Sonuç olarak, anormal protaminasyon anormal semen parametrelerine sahip erkeklerde yaygın olup normal semen parametrelerine sahip ve fertil erkeklerde de az rastlanmaktadır.^[53,59] Birçok çalışma da histonların protaminlerle anormal değişimini düşük semen kalitesi ve bazı çalışmalar da azalan IVF başarısı ve gebelik hızlarıyla ilişkilendirmiştir.^[56,58,60,61]

Protamin düzeylerinin uygun olması kromatinin daha sıkı paketlenmesine ve sonuçta da sperm nükleusunun daha fazla sıkıştırılmasına neden olmaktadır. Memeli sperm kromatinini üç bölümden oluşmaktadır. Bu bölümler protaminlere bağlanan DNA bölümü, histonlara bağlanan DNA bölümü ve sperm çekirdek matriksine bağlanan DNA bölümüdür.^[62] Protamin ile

DNA'nın paketlenme işlemi, protaminler ve toroidal kromatin yapıları arasında disülfid bağlarının oluşturulmasıyla gerçekleşmektedir.^[63] Her toroidal alt üniteye yaklaşık 50 kb DNA paketlenmektedir.^[39] Ward, yakın zamanda DNA'nın protaminlerle paketlenmesi ile ilgili olarak özgün bir model ortaya atmıştır. Bu modele göre her toroid, DNA'nın bir halka bölgesi ile bağlayıcı bölge matriks bağlantılı bölgelere eşittir.^[62,64] Bu model toroid sıkıştırılmasıyla ve toroidlerin istiflenmesiyle protamine bağlı DNA'nın hasardan korunurken, linker (bağlayıcı) bölgelerin ve histona bağlı DNA bölgelerinin endonükleazların oluşturduğu DNA hasarına maruz kaldığını göstermektedir.^[65]

Diğer yandan fertil erkeklerde DNA'nın yaklaşık %5-10'unu, infertil erkeklerde ise daha fazlası histonlara bağlı kalmaktadır.^[66,67] Sperm nükleusunda somatik hücrelere benzer kromatin bulunmasının çocuklara farklı genetik bilginin iletilmesine neden olabileceği bildirilmiştir. Son zamanlara kadar sperm nükleusunda protaminlerle yer değiştirmeyen histonların ne işe yaradığı bilinmemekteydi ve büyük ölçüde yetersiz protaminasyondan kaynaklandığı düşünülmekteydi. Yapılan iki çalışma sperm genomu boyunca tutulan ve protaminlerle yer değiştirmeyen histonların lokalizasyonunu belirlemiştir. Arpanahi ve arkadaşları insan ve fare sperm kromatinini endonükleazlarla keserek endonükleazlara duyarlı bölgeleri belirlemiştir.^[68] Endonükleazlara duyarlı bölgelerin, büyük ölçüde histona bağlı bölgeler olduklarını ve promotorları da içeren düzenleyici genom bölgelerini barındırdıklarını bildirmişlerdir. Hammoud ve ark.'ları^[66] ise farklı bir yöntem kullanmışlardır. Histona bağlı kromatini, protamine bağlı kromatinden ayırmak için micrococcal nükleaz sindirimi ve jel purifikasyon yöntemi kullanmışlardır. Bu protein purifikasyonunu, histona bağlı ve protamine bağlı DNA'yı tanımlamak için mikroarray analizi ve dizileme işlemi takip etmiştir. Bu çalışmada fertil ve normospermik erkeklerin spermeleri kullanılmış ve histonların gelişim için gereken genlerin promotorlarında yoğunlaştığı, miRNA ve imprintinge uğrayan genlerde de kesintiye uğramadığını göstermiştir. Bu çalışma, protaminlerin ise hiçbir gen ailesinde yoğunlaşmadığını da göstermektedir. Sonuç olarak, bu iki çalışma geriye kalan histonların embriyonun gelişiminde potansiyel bir epigenetik rolünün olabileceğini göstermektedir. Hammoud ve arkadaşları, kalan histonların varyantlarının epigenetik rolünün bir amaca yönelik olabileceğini bildirmektedirler. Gerçekten, sonrasında yaptıkları çalışmalar, embriyonik kök hücrelerin gelişimden sorumlu genlerin ve gelişimden sorumlu kritik genlerde H3K4me3 ve H3K27me3'ün bivalent olarak damgalandığı göstermişlerdir. Bivalent işaretlenmiş olan bu DNA bölgeleri aynı zamanda metillenmiştir ve genomun dengede kalmasını sağlayan bölgeler arasında yer aldıkları bildirilmiştir.^[66,69] Son çalışmalar kalan histonların sperm epigenetik konumunun belirlenmesinde önemli role sahip olduğunu, genomda rastgele dağılmadığını ve özgül histon modifikasyonlarının genom aktivasyonu ve susturma işlemini düzenleyecek şekilde olduğunu

göstermektedir.^[69-71] Bu veriler sperm kromatinin, fertilizasyon sonrası transkripsiyonel düzenlemeyi etkileyebilecek epigenetik özellikleri kalıtılabileceğini göstermektedir.^[72]

Son yıllarda erkek infertilitesiyle ilgili çok sayıda genetik çalışma yapılmış olmasına rağmen hala infertilite olgularının önemli kısmının nedenleri açıklanamamaktadır. Yapılan çalışmalar epigenetik faktörlerin spermatogenezde önemli rol aldığını göstermektedir. Bu faktörlerin ve etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılması, erkek infertilitesinin nedenlerinin belirlenmesi ve sonrasında da bu mekanizmaların nasıl kontrol edilebileceğinin belirlenmesine katkı sağlayabilir.

Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions

Concept - S.G., T.K.; Design - S.G., T.K.; Supervision - S.G.; Funding - S.G.; Materials - S.G., T.K.; Data Collection and/or Processing - S.G., T.K.; Analysis and/or Interpretation - S.G., T.K.; Literature Review - S.G., T.K.; Writer - S.G., T.K.; Critical Review - S.G.

Acknowledgements

We would like to thank Mert Nahir for drawing of figure.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Hakem değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları

Fikir - S.G., T.K.; Tasarım - S.G., T.K.; Denetleme - S.G.; Kaynaklar - S.G.; Malzemeler - S.G., T.K.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - S.G., T.K.; Analiz ve/veya yorum - S.G., T.K.; Literatür taraması - S.G., T.K.; Yazıyı yazan - S.G., T.K.; Eleştirel İnceleme - S.G.

Teşekkür

Şeklin çizimindeki katkılarından dolayı Mert Nahir'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Carrell DT. Epigenetics of the male gamete. *Fertil Steril* 2012;97:267-74. [\[CrossRef\]](#)
2. Angers B, Castonguay E, Massicotte R. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Mol Ecol* 2010;19:1283-95. [\[CrossRef\]](#)
3. Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat Rev Genet* 2002;3:662-73. [\[CrossRef\]](#)
4. Richardson BC. Role of DNA methylation in the regulation of cell function autoimmunity, aging and cancer. *J Nutr* 2002;132:2401-5.

5. Surani MA, Hayashi K, Hajkova P. Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. *Cell* 2007;128:747-62. [\[CrossRef\]](#)
6. Kimmins S, Sassone-Corsi P. Chromatin remodelling and epigenetic features of germ cells. *Nature* 2005;434:583-9. [\[CrossRef\]](#)
7. Dada R, Kumar M, Jesudasan R, Fernández JL, Gosálvez J, Agarwal A. Epigenetics and its role in male infertility. *J Assist Reprod Genet* 2012;29:213-23. [\[CrossRef\]](#)
8. Talbert PB, Henikoff S. Spreading of silent chromatin: inaction at a distance. *Nat Rev Genet* 2006;7:793-803. [\[CrossRef\]](#)
9. Takai D, Jones PA. Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:3740-5. [\[CrossRef\]](#)
10. Yi SV, Goodisman MA. Computational approaches for understanding the evolution of DNA methylation in animals. *Epigenetics* 2009;4:551-6. [\[CrossRef\]](#)
11. Okano M, Xie S, Li E. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nat Genet* 1998;19:219-20. [\[CrossRef\]](#)
12. Gabor Miklos GL, Maleszka R. Epigenomic communication systems in humans and honey bees: from molecules to behavior. *Horm Behav* 2011;59:399-406. [\[CrossRef\]](#)
13. Wilson VL, Jones PA. DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells. *Science* 1983;220:1055-7. [\[CrossRef\]](#)
14. Issa JP. CpG-island methylation in aging and cancer. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000;249:101-18. [\[CrossRef\]](#)
15. Molaro A, Hodges E, Fang F, Song Q, McCombie WR, Hannon GJ, et al. Sperm methylation profiles reveal features of epigenetic inheritance and evolution in primates. *Cell* 2011;146:1029-41. [\[CrossRef\]](#)
16. Campos EI, Reinberg D. Histones: annotating chromatin. *Annu Rev Genet* 2009;43:559-99. [\[CrossRef\]](#)
17. Cairns BR. The logic of chromatin architecture and remodelling at promoters. *Nature* 2009;461:193-8. [\[CrossRef\]](#)
18. Liu Y, Lu C, Yang Y, Fan Y, Yang R, Liu CF, et al. Influence of histone tails and H4 tail acetylations on nucleosome-nucleosome interactions. *J Mol Biol* 2011;14:749-64. [\[CrossRef\]](#)
19. Peng L, Seto E. Deacetylation of nonhistone proteins by HDACs and the implications in cancer. *Handb Exp Pharmacol* 2011;206:39-56. [\[CrossRef\]](#)
20. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007;128:693-705. [\[CrossRef\]](#)
21. Handy DE, Castro R, Loscalzo J. Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease. *Circulation* 2011;123:2145-56. [\[CrossRef\]](#)
22. Werner M, Ruthenburg AJ. The united states of histone ubiquitylation and methylation. *Mol Cell* 2011;43:5-7. [\[CrossRef\]](#)
23. Carrell DT, Emery BR, Hammoud S. The aetiology of sperm protamine abnormalities and their potential impact on the sperm epigenome. *Int J Androl* 2008;31:537-45. [\[CrossRef\]](#)
24. Lachner M, O'Sullivan RJ, Jenuwein T. An epigenetic road map for histone lysine methylation. *Cell Sci* 2003;116:2117-24. [\[CrossRef\]](#)
25. McLaren A. Primordial germ cells in the mouse. *Dev Biol* 2003;262:1-15. [\[CrossRef\]](#)
26. Payne C, Braun RE. Histone lysine trimethylation exhibits a distinct perinuclear distribution in Plzf-expressing spermatogonia. *Dev Biol* 2006;293:461-72. [\[CrossRef\]](#)
27. Peters AH, O'Carroll D, Scherthan H, Mechtler K, Sauer S, Schofer C, et al. Loss of the Suv39h histone methyltransferases im-

- pairs mammalian heterochromatin and genome stability. *Cell* 2001;107:323-37. [\[CrossRef\]](#)
28. Namekawa SH, Park PJ, Zhang LF, Shima JE, McCarrey JR, Griswold MD, et al. Postmeiotic sex chromatin in the male germline of mice. *Curr Biol* 2006;16:660-7. [\[CrossRef\]](#)
 29. Turner JM, Mahadevaiah SK, Ellis PJ, Mitchell MJ, Burgoyne PS. Pachytene asynapsis drives meiotic sex chromosome inactivation and leads to substantial postmeiotic repression in spermatids. *Dev Cell* 2006;10:521-9. [\[CrossRef\]](#)
 30. Gaucher J, Reynoird N, Montellier E, Boussouar F, Rousseaux S, Khochbin S. From meiosis to postmeiotic events: the secrets of histone disappearance. *FEBS J* 2010;277:599-604. [\[CrossRef\]](#)
 31. van Roijen HJ, Ooms MP, Spaargaren MC, Baarends WM, Weber RF, Grootegoed JA, et al. Immunoeexpression of testis-specific histone 2b in human spermatozoa and testis tissue. *Hum Reprod* 1998;13:1559-66. [\[CrossRef\]](#)
 32. Martianov I, Brancorsini S, Catena R, Gansmuller A, Kotaja N, Parvinen M, et al. Polar nuclear localization of H1T2, a histone H1 variant, required for spermatid elongation and DNA condensation during spermiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:2808-13. [\[CrossRef\]](#)
 33. Carrell DT, Hammoud SS. The human sperm epigenome and its potential role in embryonic development. *Mol Hum Reprod* 2010;16:37-47. [\[CrossRef\]](#)
 34. Rangasamy D, Berven L, Ridgway P, Tremethick DJ. Pericentric heterochromatin becomes enriched with H2a.Z during early mammalian development. *EMBO J* 2003;22:1599-607. [\[CrossRef\]](#)
 35. Meistrich ML, Trostle-Weige PK, Lin R, Bhatnagar YM, Allis CD. Highly acetylated H4 is associated with histone displacement in rat spermatids. *Mol Reprod Dev* 1992;31:170-81. [\[CrossRef\]](#)
 36. Sonnack V, Failing K, Bergmann M, Steger K. Expression of hyperacetylated histone H4 during normal and impaired human spermatogenesis. *Andrologia* 2002;34:384-90. [\[CrossRef\]](#)
 37. Yamauchi Y, Shaman JA, Ward WS. Non-genetic contributions of the sperm nucleus to embryonic development. *Asian J Androl* 2011;13:31-5. [\[CrossRef\]](#)
 38. Oliva R. Protamines and male infertility. *Hum Reprod Update* 2006;12:417-35. [\[CrossRef\]](#)
 39. Balhorn R. A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. *J Cell Biol* 1982;93:298-305. [\[CrossRef\]](#)
 40. Santos F, Hendrich B, ReikW, DeanW. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol* 2002;241:172-82. [\[CrossRef\]](#)
 41. Adenot PG, Mercier Y, Renard JP, Thompson EM. Differential H4 acetylation of paternal and maternal chromatin precedes DNA replication and differential transcriptional activity in pronuclei of 1-cell mouse embryos. *Development* 1997;124:4615-25.
 42. Churikov D, Siino J, Svetlova M, Zhang K, Gineitis A, Morton Bradbury E, et al. Novel human testis-specific histone H2B encoded by the interrupted gene on the X chromosome. *Genomics* 2004;84:745-56. [\[CrossRef\]](#)
 43. Rousseaux S, Boussouar F, Gaucher J, Reynoird N, Montellier E, Curtet S, et al. Molecular models for post-meiotic male genome reprogramming. *Syst Biol Reprod Med* 2011;57:50-3. [\[CrossRef\]](#)
 44. Song N, Liu J, An S, Nishino T, Hishikawa Y, Koji T. Immunohistochemical analysis of histone H3 modifications in germ cells during mouse spermatogenesis. *Acta Histochem Cytochem* 2011;44:183-90. [\[CrossRef\]](#)
 45. Rousseaux S, Gaucher J, Thevenon J, Caron C, Vitte AL, Curtet S, et al. [Spermiogenesis: histone acetylation triggers male genome reprogramming]. *Gynecol Obstet Fertil* 2009;37:519-22. [\[CrossRef\]](#)
 46. Meistrich ML, Mohapatra B, Shirley CR, Zhao M. Roles of transition nuclear proteins in spermiogenesis. *Chromosoma* 2003;111:483-8. [\[CrossRef\]](#)
 47. Corzett M, Mazrimas J, Balhorn R. Protamine 1: protamine 2 stoichiometry in the sperm of eutherian mammals. *Mol Reprod Dev* 2002;61:519-27. [\[CrossRef\]](#)
 48. Carrell DT, Emery BR, Hammoud S. Altered protamine expression and diminished spermatogenesis: what is the link? *Hum Reprod Update* 2007;13:313-27. [\[CrossRef\]](#)
 49. Aoki VW, Carrell DT. Human protamines and the developing spermatid: their structure, function, expression and relationship with male infertility. *Asian J Androl* 2003;5:315-24.
 50. Shirley CR, Hayashi S, Mounsey S, Yanagimachi R, Meistrich ML. Abnormalities and reduced reproductive potential of sperm from Tnp1- and Tnp2-null double mutant mice. *Biol Reprod* 2004;71:1220-9. [\[CrossRef\]](#)
 51. Oakes CC, La Salle S, Smiraglia DJ, Robaire B, Trasler JM. A unique configuration of genome-wide DNA methylation patterns in the testis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:228-33. [\[CrossRef\]](#)
 52. de Mateo S, Ramos L, de Boer P, Meistrich M, Oliva R. Protamine 2 precursors and processing. *Protein Pept Lett* 2011;18:778-85. [\[CrossRef\]](#)
 53. Carrell DT, Liu L. Altered protamine 2 expression is uncommon in donors of known fertility, but common among men with poor fertilizing capacity, and may reflect other abnormalities of spermiogenesis. *J Androl* 2001;22:604-10.
 54. Aoki VW, Liu L, Jones KP, Hatasaka HH, Gibson M, Peterson CM, et al. Sperm protamine 1/protamine 2 ratios are related to in vitro fertilization pregnancy rates and predictive of fertilization ability. *Fertil Steril* 2006;86:1408-15. [\[CrossRef\]](#)
 55. Torregrosa N, Dominguez-Fandos D, Camejo MI, Shirley CR, Meistrich ML, Balleca JL, et al. Protamine 2 precursors, protamine 1/protamine 2 ratio, DNA integrity and other sperm parameters in infertile patients. *Hum Reprod* 2006;21:2084-9. [\[CrossRef\]](#)
 56. Simon L, Castillo J, Oliva R, Lewis SE. Relationships between human sperm protamines, DNA damage and assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online* 2011;23:724-34. [\[CrossRef\]](#)
 57. Huser T, Orme CA, Hollars CW, Corzett MH, Balhorn R. Raman Spectroscopy of DNA packaging in individual human sperm cells distinguishes normal from abnormal cells. *J Biophotonics* 2009;2:322-32. [\[CrossRef\]](#)
 58. Aoki VW, Emery BR, Liu L, Carrell DT. Protamine levels vary between individual sperm cells of infertile human males and correlate with viability and DNA integrity. *J Androl* 2006;27:890-8. [\[CrossRef\]](#)
 59. Nanassy L, Liu L, Griffin J, Carrell DT. The clinical utility of the protamine 1/protamine 2 ratio in sperm. *Protein Pept Lett* 2011;18:772-7. [\[CrossRef\]](#)
 60. Soteriadou KP, Remoundos MS, Katsikas MC, Tzinia AK, Tsikaris V, Sakarellos C, et al. The Ser-Arg-Tyr-Asp region of the major surface glycoprotein of *Leishmania* mimics the Arg-Gly-Asp-Ser cell attachment region of fibronectin. *J Biol Chem* 1992;267:13980-5.

61. Haidl G, Schill WB. Assessment of sperm chromatin condensation: an important test for prediction of IVF outcome. *Arch Androl* 1994;32:263-6. [\[CrossRef\]](#)
62. Ward WS. Function of sperm chromatin structural elements in fertilization and development. *Mol Hum Reprod* 2010;16:30-6. [\[CrossRef\]](#)
63. Cree LH, Balhorn R, Brewer LR. Single molecule studies of DNA-protamine interactions. *Protein Pept Lett* 2011;18:802-10. [\[CrossRef\]](#)
64. Yanagimachi R. Male gamete contributions to the embryo. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1061:203-7. [\[CrossRef\]](#)
65. Dominguez K, Arca CDR, Ward WS. The relationship between chromatin structure and DNA damage in mammalian spermatozoa. In: Zini A, Agarwal A, editors. *Sperm chromatin: biological and clinical applications in male infertility and assisted reprod*, 2011. pp.61-8.
66. Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, Purwar J, Carrell DT, Cairns BR. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature* 2009;460:473-8.
67. Hammoud SS, Nix DA, Hammoud AO, Gibson M, Cairns BR, Carrell DT. Genome-wide analysis identifies changes in histone retention and epigenetic modifications at developmental and imprinted gene loci in the sperm of infertile men. *Hum Reprod* 2011;26:2558-69. [\[CrossRef\]](#)
68. Arpanahi A, Brinkworth M, Iles D, Krawetz SA, Paradowska A, Platts AE, et al. Endonuclease-sensitive regions of human spermatozoal chromatin are highly enriched in promoter and CTCF binding sequences. *Genome Res* 2009;19:1338-49. [\[CrossRef\]](#)
69. Gan Q, Yoshida T, McDonald OG, Owens GK. Concise review: epigenetic mechanisms contribute to pluripotency and cell lineage determination of embryonic stem cells. *Stem Cells* 2007;25:2-9. [\[CrossRef\]](#)
70. Hammoud S, Liu L, Carrell DT. Protamine ratio and the level of histone retention in sperm selected from a density gradient preparation. *Andrologia* 2009;41:88-94. [\[CrossRef\]](#)
71. Li Y, Lalancette C, Miller D, Krawetz SA. Characterization of nucleohistone and nucleoprotamine components in the mature human sperm nucleus. *Asian J Androl* 2008;10:535-41. [\[CrossRef\]](#)
72. Miller D, Brinkworth M, Iles D. Paternal DNA packaging in spermatozoa: more than the sum of its parts? DNA, histones, protamines and epigenetics. *Reproduction* 2010;139:287-301. [\[CrossRef\]](#)