فاطمه سادات هدی، گروه تکوین، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
دکتر طاهره ناجی، دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران

بررسی تاثیر انجماد تخمدان در جنین

ناباروری مشکلی شایع است و در ۱۵-۱۰درصد زوج ها در سنین باروری دیده می شود(۱). طبق تعریف، ناباروری عدم بارداری به مدت ۱۲ ماه یا بیشتر مشروط بر عدم استفاده از روش های پیشگیری از بارداری و داشتن نزدیکی است. شیوع ناباروری اولیه، ۱۰/۶ درصد و ناباروری ثانویه، ۶/۷ درصد گزارش شده است (۲). طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی، ۸۰ میلیون داوطلب درمان ناباروری در دنیا وجود دارد (۳). امروزه استفاده از روش های کمک باروری reproductive Assisted technology (ART) بهترین گزینه برای رفع مشکلات زوج های نابارور است. تلقیح آزمایشگاهی (IVF)و تزریق درون سیتوپلاسمی Intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) دو اسپرم روش موفقیت آمیز برای درمان ناباروری زوجها و کمک برای حاملگی است(۲).

روش های ممکن دیگر در درمان ناباروری در این افراد شامل جابجایی تخمدان، انجماد جنین، انجماد تخمک و انجماد و پیوند بافت تخمدان است. در تکنیک های انجماد جنین و تخمک نیاز به تحریکات هورمونی به منظور افزایش تعداد تخمک ها برای افزایش بازده کار است.

بانک انجماد تخمک در برنامه های اهدای تخمک برای اهداف تحقیق مورد استفاده قرار می گیرد.(۴)همچنین انجماد تخمک برای زنانی که به دلایلی مانند تحصیل یا اشتغال و تمایل دارند حاملگی خود را به تأخیر بیاندازند، کاربرد دارد.

امروزه محققان به دنبال روش های مناسبی برای نگهداری گامت و جنین جانوران هستند، که از جمله این روش ها انجماد بافت تخمدان است(۵). مهم ترین دلیل به کارگیری انجماد تخمدان در مقایسه با انجماد تخمک، مربوط به وجود تعداد زیادی فولیکول در مراحل مختلف تکوینی است که می توان به دفعات در سیکل های متوالی ازآن استفاده کرد. به علت حساسیت کمتر تخمک نابالغ به تغییرات دما، استفاده از انجماد بافت تخمدانی که دارای تعداد فراوانی تخمک نابالغ است در مقایسه با انجماد تخمک بالغ مناسب تر به نظر می رسد. از طرف دیگر انجماد تخمک و جنین هزینه بر و با موفقیت کمتر همراه بوده است(۶).

انجماد بافت تخمدان با دارا بودن تعداد زیادی فولیکول در مراحل تکوینی مختلف می تواند پتانسیل باروری بالایی داشته باشد؛ لذا این روش در درمان ناباروری یا در بیماران مبتلا به سرطان که تحت درمان با رادیوتراپی یا شیمی درمانی هستند و پس از درمان می خواهند به زندگی طبیعی خود برگردند، اهمیت به سزایی دارد (۷).

انجماد تخمدان می تواند برای بیماران غیرسرطانی همچون بیماری های خودایمنی، گیرنده‌های مغز استخوان یا پیوند سلول بنیادی یا افراد متحمل برداشت تخمدان براساس شروع بیماری سودمند باشد. همچنین این عمل برای زنان در معرض یائسگی زودرس (ناشی از مشکلات ژنتیکی همچون سندروم ترنر) با ارزش گزارش شده است(۸).

با توجه به اهمیت انجماد در کوتاه ترین زمان ممکن، روش انجماد شیشه ای روشی مناسب به نظر می رسد. این روش در مقایسه با دیگر روش های انجمادی مزایای فراوانی دارد، به طوری که از سرعت و سهولت برخوردار بوده و صدمات سلولی ناشی از فرآیند انجماد به حداقل ممکن می رسد (۹)روش انجماد شیشه‌ای به صورت بالینی برای اولین بار در اوایل سال ۱۹۸۰ معرفی شد و در سال ۱۹۸۵ تاثیر روش انجماد شیشه ای در حفظ سرمایی جنین مشخص شد.(۱۰)

در سال ۲۰۰۵ روش انجماد شیشه ای با موفقیت در اووسیت های انسان استفاده شده است(۶). گزارشات نشان داده است که پیوند ارتوتوپیک قطعات قشری تخمدان منجر به آبستنی و تولد نوزاد زنده شده است(۱۱). موفقیت

در تخمدان های پیوند زده شده انسان و سایر گونه ها پس از انجماد آهسته نیز نشان داده شده است(۱۲).

به منظور انجماد، تخمدان ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول تعادل و به مدت ۲ دقیقه در محلول انجماد قرار داده شدند. سپس نمونه ها در کرایوویال قرار گرفته و به تانک ازت منتقل و ذخیره شدند. پس از ۱، ۷ و ۳۰ روز، تخمدان ها از حالت انجماد خارج و در دمای آزمایشگاه (۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد) در محلول ذوب منتقل شدند. برای عمل ذوب از شیب غلظتی ساکاروز ۰، ۰/۵ و ۱ مولار استفاده شد (حل کردن یک مول ساکارز در۱۰۰۰ میلی لیتر آب). در ذوب، تخمدان ها ابتدا در محلول سوکروز ۱ مولار به مدت ۱ دقیقه و سپس در سوکروز ۰/۵ مولار به مدت ۳ دقیقه و بعد در آب به مدت ۳ دقیقه قرار گرفتند. شستشو نمونه ها در محیط پایه سرم جنینی گوساله(FBS) و محیط کشت سلولی DMEM به مدت ۵ دقیقه انجام شد(۱۳).

انجماد بافت تخمدان

با وجودی که اولین تلاش ها برای فریزکردن بافت تخمدان به علت عدم وجود مواد محافظت کننده انجمادی موثر، عدم وجود ماشین های اتوماتیک انجمادی و عدم وجود روش های انجمادی موثر کامل ناموفق و تنها درحدود ۵درصد بود،(۱۴,۱۵) اما در دهه ی ۱۹۷۰ با دردسترس قرار گرفتن مواد محافظت کننده ی انجمادی موثرتر مثل پروپاندیول، اتیلن گالیکول و DMSO(۱۶) و توسعه روش های انجماد آهسته موفقیت هایی در انجماد بافت تخمدان جانوران در باروری و(۱۷,۱۸)حاصل شد. اما علیرغم این پیشرفت ها در مورد کاربرد این روش ها در انسان شک و تردید وجود داشت، تا این که ابتدا در گوسفند و سپس در میمون پیوندهای اورتوتوپیک و هتروتوپیک بافت های منجمد تخمدانی با موفقیت هایی همراه شد. درسال ۲۰۰۴ دونز اولین تولد زنده را پس از پیوند بافت تخمدان منجمد شده انسانی گزارش کرد.(۱۹)

انجماد بافت تخمدان در مقایسه با انجماد تخمک یا جنین، احتیاج به تحریک تخمدان و یا تأخیر در شروع درمان سرطان ندارد و نیازی به وجود همسر یا اهداکننده ی اسپرم هم نیست. انجماد بافت تخمدان ممکن است بهترین گزینه برای حفظ باروری در دختران در سنین قبل از بلوغ و زنان مجردی باشد که مایل به استفاده از اسپرم اهدایی نیستند. با این حال، این روش تهاجمی است و نیاز به بیهوشی عمومی و برداشتن بافت تخمدان دارد. علاوه براین، مراکز پزشکی محدودی وجود دارند که در این زمینه تخصص دارند. از آنجا که ذخایر تخمدان یعنی تعداد تخمک های نابالغ محصور در فولیکول های داخل تخمدان وابسته به سن است، این روش نباید برای زنان بالاتر از سن ۳۹سال استفاده شود.(۲۰)بافت تخمدانی که حاوی فولیکول های متعدد است برداشته می شود و بعد از آن می تواند به طور بالقوه برای بازگرداندن باروری با دو روش اصلی مورد استفاده قرار گیرد: ۱)پیوند مجدد بافت ذوب شده به فردی که سرطانش درمان شده و یا ۲) جداسازی فولیکول ها از بافت ذوب شده برای رشد، بلوغ و لقاح آزمایشگاهی. علل اصلی بقای کم فولیکولی پس از پیوند، آسیب ناشی از روش های انجماد و آسیب های ایسکمیک است. جلوگیری از آسیب انجمادی و کاهش طول مدت ایسکمی از زمان پیوند تا آنژیوژنز برای حفظ فولیکول ها و گسترش عملکرد و طول عمر بافت پیوندی ضروری است(۲۱).

نتیجه

با توجه به این که در انجماد تخمدان در مقایسه با انجماد تخمک، از تعداد زیادی فولیکول در مراحل مختلف تکوینی و به دفعات در سیکل های متوالی میتوان استفاده نمود و یافته های این بررسی که روش انجماد شیشه ای در مدت زمان های مختلف باعث هیچگونه ناهنجاری مورفولوژیک و ساختاری در رده های مختلف فولیکولی بافت تخمدان نشده است، انجماد

شیشه ای می تواند به عنوان روش مطلوبی در نگهداری رده های مختلف فولیکولی بافت تخمدان معرفی شود.

منابع:

[1] Nojoumi M, Ashrafi M. Study of couples infertility in the west of tehran, in the year of 2000. J Iran Univ Med Sci 2002; 8(27): 8.

[2] Rohani Z, M. N Evaluation of the prevalence of fallopian tube abnormality in primary and secondary infertility based on hystrosalpingography findings. J Iran Univ Med Sci 53) ;1997): 105-11.

[3] Nene U, Coyaji K, Apte H. a label of choice in the case of sexually dysfunctional couples. Patient EducCouns 8-234 :(3)59 ;2005.

[4] Paynter SJ. A rational approach to oocyte cryopreservation.ReprodBioMed Online. 2005;10(5):578-86

[5] .Klocke S, Bündgen N, Köster F, Eichenlaub-Ritter U, Griesinger G. Slow-freezing versus vitrification for human ovarian tissue cryopreservation. Arch Gynecol Obstet. 2015;291(2):419-26

[6] Herrero L, Pareja S, Aragonés M, Cobo A, Bronet F, Garcia-Velasco JA. Oocyte versus embryo vitrification for delayed embryo transfer: an observational study. Reprod Biomed Online. 2014;29(5):567-72

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

[8] Kavoussi SK, Fisseha S, Smith YR, Smith GM, Gago LA. Oocyte cryopreservation in a woman with mosaic Turner syndroe: a case report. Reprod Biomed. 2008;53(3):223-6

[9] Aman RR, Parks JE. Effects of cooling and rewarming on the meiotic spindle and chromosomes of in vitro matured bovine oocytes.BiolReprod. 1994;50(1):103-

[10] Amorim CA, Goncalves PB, Figueiredo JR. Cryopreservation of oocytes from pre-antral follicles. Hum Reprod Update. 2003;9(2):119-29

[11] Ambrosini G, Andrisani A, Porcu E, Rebellato E, Revelli A, Caserta D, et al. Oocytes cryopreservation: state of ART. ReprodToxicol. -250:(2)22;2006 12 .62.

[12] Rall WF, Fahy GM. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. Nature. 1985;313:573-5

[13] EsmaielZade F, Hamedi L, The Effect of Vitrification on Follicular Morphology of Ovarian Rat 2015

[14] Deanesly R. (1957), Egg survival in immature rat ovaries grafted after freezing and thawing. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 147 (928): 412-421.

[15] Green S, SMITH AU, Zuckerman S. (1956), The numbers of oocytes in ovarian autografts after freezing and thawing. Journal of Endocrinology, 13(3): 330-NP.

[16] Newton H, Aubard Y, Rutherford A, Sharma V, Gosden R. (1996), Ovary and ovulation: Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. Human reproduction, 11(7):1487-1491.

[17] Bisharah M, Tulandi T. (2003), Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure. American journal of obstetrics and gynecology, 188(2):367-370.

[18] Dath C, Dethy A, Van Langendonckt A, Van Eyck AS, Amorim CA, Luyckx V, Donnez J, Dolmans MM. (2011), Endothelial cells are essential for ovarian stromal tissue restructuring after xenotransplantation of isolated ovarian stromal cells. Hum Reprod, 26(6):1431- 1439.

[19] Li F, Turan V, Lierman S, Cuvelier C, De Sutter P, Oktay K. (2014), Sphingosine-1- phosphate prevents chemotherapy-induced human primordial follicle death. Hum Reprod, 29 (1): 107-113

[20] [28]Donnez J, Dolmans M-M.(2013), Fertility preservation in women. Nature Reviews Endocrinology, 9(12):735-749

[21] Ting AY, Yeoman RR, Lawson MS, Zelinski MB. (2011), In vitro development of secondary follicles from cryopreserved rhesus macaque ovarian tissue after slowrate freeze or vitrification. Human reproduction, 26 (9): 2461-2472.