فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال دهم، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۶

"مقاله مروری" امیدهای تازه در حفظ باروری زنان مبتلا به سرطان

سیده فاطمه سیادت[۱*]،روح الله فتحی[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

[۲] گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشکده زیست شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

[*] Email:fsiadat2003@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۲۹

چکیده

پیشرفت‌های اخیر در تشخیص و درمان سرطان نظیر درمان با روش‌های رادیوتراپی و شیمی درمانی و پیوند مغز استخوان امید به زندگی را در بیماران مبتلا به سرطان افزایش داده است. متاسفانه درمان با این روش‌های تهاجمی عوارض جانبی و گاهی شدیدی را به جا می‌گذارد. مواد سمی و تشعشعات یونیزان باعث آسیب رسیدن به تخمدان، تهدید فعالیت آندوکرین و چرخه تولید مثلی و از دست دادن باروری و نارسایی زودرس تخمدان (POF) می‌شود. روش‌های رایج در درمان ناباروری در این افراد شامل جابجایی تخمدان انجماد جنین، انجماد تخمک و انجماد بافت تخمدان و پیوند بافت تخمدان است. انجماد جنین و تخمک نیاز به تحریکات هورمونی به منظور افزایش تعداد تخمک‌ها داردکه اگرچه بازده کار را افزایش می‌دهد اما آغاز درمان سرطان را به تاخیر انداخته و مستقیما باعث پیشرفت تومورهای سرطانی وابسته به هورمون می‌شود. از طرفی در انجماد جنین نیاز به شریک جنسی (همسر یا فرد دهنده اسپرم) است و این درمان در دختران جوان و کودکان قابل دسترسی نیست. به همین دلیل در این بیماران جوان به منظور حفظ باروری انجماد بافت تخمدان و سپس پیوند آن راهکار کاربردی تری است. تا کنون روش‌های مختلفی در پیوند تخمدان بر روی گونه‌های مختلف جانوری و انسان انجام گرفته است. هر کدام از این روش ها دارای مزایا و معایبی است. در سال ۲۰۰۴ اولین تولد نوزاد زنده انسانی از بافت پیوندی گزارش گردید. با وجود این هنوز مسائل حل نشده بسیاری در زمینه حفظ باروری در بیماران مبتلا به سرطان باقی مانده است. از طرفی نیز دریچه‌های امیدی در حفظ باروری افراد سرطانی رو به آینده گشوده شده است.این بررسی با هدف به روز رسانی تحقیقات انجام شده در مورد استراتژی‌های حفظ باروری صورت گرفته است و خلاصه‌ای از پیشرفت‌های حاصل شده در این زمینه را ارائه می‌کند.

کلیدواژه‌ها: انجماد تخمدان، پیوند تخمدان، تخمک مصنوعی، حفظ باروری، سرطان، سلول های بنیادی تخمدان، گناد مصنوعی.

مقدمه

پیشرفت‌های اخیر در تشخیص و درمان سرطان امید به زندگی را در افراد سرطانی افزایش داده است. از جمله روش‌های درمانی در سرطان رادیوتراپی و شیمی درمانی است که با استفاده از اشعه های یونیزه کننده و داروهای آلکیله کننده صورت می‌پذیرد. اثرات جانبی چنین درمان های سیتوتوکسیک آسیب رسیدن به تخمدان، و از دست دادن باروری در افراد و توقف عملکرد آندوکرین است.

روش‌های احتمالی در درمان ناباروری در این افراد شامل جابجایی تخمدان انجماد جنین، انجماد تخمک، و انجماد و پیوند بافت تخمدان است. در تکنیک‌های انجماد جنین و تخمک نیاز به تحریکات هورمونی به منظور افزایش تعداد تخمک‌ها برای افزایش بازده کار است. چنین تحریکات هورمونی آغاز درمان سرطان را به‌تأخیر می‌اندازد و ممکن است مستقیماً باعث پیشرفت تومورهای سرطانی وابسته به هورمون شود. انجماد جنین نسبت به انجماد تخمک امکان موفقیت بیشتری دارد اما تنها در افرادی که دارای همسر باشند یا تمایل به استفاده از اسپرم اهدایی باشند کاربرد دارد و در بیماران جوان و کودکان قابل دسترسی نیست.

در انجماد جنین و تخمک تعداد تخمک‌های بدست آمده محدود است، در صورتی که انجماد بافت تخمدان که حاوی تعداد بسیار زیادی فولیکول‌های بدوی است می‌تواند مفیدتر باشد. یکی از مزیت‌های استفاده از بافت تخمدان این است که درمان سرطان بدون تأخیر به راحتی می‌تواند انجام شود. به علاوه فولیکول‌های بدوی، کوچک و از نظر ساختمانی ساده ترند و بنابراین نسبت به روش‌های انجماد و ذوب که به سهولت باعث تحلیل رفتن فولیکول‌های بزرگ می‌گردند مقاوم ترند. بعد از درمان سرطان در افراد بهبود یافته، برای باز گرداندن باروری، یک راه، کشت فولیکول‌های حاصل از بافت تخمدان منجمد شده است. تکوین جنین از تخمک‌های حاصل از فولیکول‌های پر آنترال کشت شده در محیط آزمایشگاه با موفقیت انجام شده است. اما در مورد فولیکول‌های بدوی و اولیه با استفاده از همان محیط های کشت این امکان فراهم نشده است. تکوین کامل اووسیت های موش در محیط آزمایشگاهی از مرحله فولیکول بدوی تنها توسط یک گروه گزارش شده است.

رشد فولیکول‌های منفرد جدا شده یا فولیکول‌های موجود در برش‌های کورتیکال تخمدان درمحیط آزمایشگاهی زیاد از حد طول می‌کشد و ثابت شده است که بسیار مشکل می باشد.

راه دیگر پیوند بافت تخمدان است. پیوند بافت تخمدان منجمد شده به خود فرد[1] به نظر می‌رسد که امکان بارداری را به صورت طبیعی فراهم می‌کند. هرچند می تواند خطر انتقال سلول‌های سرطانی را به همراه داشته باشد. اگرچه مطالعات نشان می‌دهد که احتمال این انتقال پایین است. پیوند بافت تخمدان به گونه‌ی دیگری از موجودات[2] می‌تواند خطر مجدد سلول‌های سرطانی را کاهش دهد و همچنین می‌تواند به‌عنوان روشی برای حفظ گونه‌های حیوانی در معرض انقراض به کار رفته شود. با این وجود احتمال به‌کار بردن کلینیکی پیوندهای زنوگرافت بافت تخمدان انسان در آینده‌ی نزدیک به علت مسائل اخلاقی و بی‌خطرنبودن آن بعید به نظر می‌رسد. علاوه بر این انتقال برخی از عوامل مثل رتروویروس‌ها و پریون‌ها از گیرنده به بافت تخمدان از نگرانی‌های

[1] Autotransplantation
[2] Xenotransplantion
[3] Heterotopic
[4] In vitro maturation
[5] In vitro fertilization

جدی است که در این زمینه وجود دارد. همچنین مطمئن نیستیم که تخمک‌هایی که در پیوندهای زنوگرافت تکوین می‌یابند ظرفیت و شایستگی طبیعی خود را دارند.

پیوند بافت تخمدان به خود فرد اما در مکانی غیر از مکان طبیعی تخمدان[3]دارای این مزیت است که بعد از انجماد و ذوب نیاز به جراحی باز حفره شکمی برای پیوند ندارد چرا که در این روش تخمدان را به مکان دیگری مثل زیر پوست یا صفاق پیوند می‌زنند. علاوه براین در این روش امکان دستیابی به بافت تخمدان برای جمع آوری تخمک ها به منظور انجام عمل بلوغ آزمایشگاهی[4](IVM) و لقاح آزمایشگاهی [5](IVF) وجود دارد. در واقع در این روش تکنیک دومرحله‌ای برای بلوغ کامل اووسیت‌ها به کار می‌رود. این دو مرحله شامل بلوغ اولیه در In vivo (پیوند) و سپس بلوغ ثانویه در محیط آزمایشگاه (IVM) است.

یکی از مهم‌ترین فاکتورها در پیوند موفق برقراری سریع جریان خون است که برای زنده ماندن فولیکول‌های تخمدان در بافت پیوندی ضروری است. اگر آناستوموز عروقی (پیوند عروقی) در زمان انجام عمل پیوند صورت نگیرد. زنده ماندن بافت پیوند شده منحصراً به رگزایی بعد از پیوند بستگی دارد. قبل از این که بافت پیوند شده دوباره رگ‌دار شود نسبت به آسیب ایسکمی و عدم رسیدن خون به آن بسیار آسیب پذیر است. به همین علت تعداد زیادی از فولیکول ها در اثر ایسکمی از بین می‌روند. ارتباط مستقیمی بین اندازه ی فولیکول و میزان آسیب پذیری آنها به شرایط ایسکمی وجود دارد. به طوری که فولیکول‌های آنترال همواره دستخوش آسیب بیشتر هستند. نکته‌ی دیگر اینکه فولیکول‌ها بیشتر از ایسکمی از بین می‌روند و مراحل انجماد و ذوب تاثیر چندانی بر فولیکول‌ها ندارند. بنابراین محققین به دنبال شرایط و مکانی برای پیوند هستند که بافت تخمدان را از این آسیب‌ها حفظ کنند. از این رو بسیاری از آزمایشات بر فاکتورهایی که رگزایی را بهبود و سرعت می‌بخشند و نقش هورمون‌ها در این مورد متمرکز شده و در بسیاری از این تحقیقات مکان‌های مختلف برای پیوند مورد آزمایش قرار گرفته است [۹۵, ۳۸]

با وجودی که تا کنون گزارش‌هایی از تولد نوزاد زنده از پیوندهای تخمدان ارائه شده است اما از پیوند تخمدان به مکان دیگری غیر از جایگاه اصلی خود تولدی گزارش نشده است و تحقیقات در این زمینه ادامه دارد.

از طرفی به تازگی دریچه‌های امیدی در این زمینه گشوده شده است. استفاده از گنادهای مصنوعی[1] [٦٦, ١٠٦]، گامت‌های مصنوعی[2] و سلول‌های بنیادی تخمدان[3]، کشت فولیکول‌ها در محیط آزمایشگاه، فعال کردن فولیکول‌ها در محیط آزمایشگاه برخی از این روزنه‌های امید هستند [٤٠].

روش‌های رایج حفظ باروری در بیماران مبتلا به سرطان

جابجایی تخمدان[4]

در بیماران مبتلا به سرطان قبل از انجام رادیوتراپی انتقال تخمدان ها به خارج از میدان پرتوتابی می‌تواند باعث حفظ عملکرد تخمدان شود. جابجایی توسط عمل لاپاروسکوپی انجام می‌گیرد. میزان موفقیت در حفظ عملکرد تخمدان و توانایی بارداری ١٦ تا ٩٠ درصد گزارش شده است. موفقیت در این زمینه به

[1] Artificial gonad
[2] Artificial gametes
[3] Stem cell of ovary
[4] Oophoropexy

عوامل گوناگونی نظیر درجه پراکندگی تابش، سن بیمار وضعیت رگ‌ها، حفاظت تخمدان‌ها طی تابش، همراه بودن شیمی درمانی با پرتو درمانی و غیره بستگی دارد [۸،۱٤،۷۵].

متوقف کردن تخمدان[1]

در این روش به کمک آگونیست‌های Gn RH اپیتلیوم زاینده را به حالت خاموش نگاه می‌دارند. آگونیست‌های Gn RH روی محور هیپوتالاموس هیپوفیز اثر کرده و عملکرد تخمدان را متوقف می‌کنند. در مطالعات مختلف در مورد این که آیا واقعا چنین مکانیسمی اثر حمایتی روی تخمدان‌ها دارد یا نه بحث وجود دارد [۹،۳۳،۸۵].

استفاده از بازدارنده‌های مرگ سلولی[2]

آپوپتوز نقش مهمی در فرآیند کاهش طبیعی سلول‌های زاینده در تخمدان دارد. احتمالا مسیر ژنتیکی از پیش تعیین شده ای وجود دارد که می تواند توسط داروهای شیمی درمانی فعال شود [۷٦]. در نتیجه استفاده از بازدارنده های آپوپتوتیک بالقوه می‌تواند از فرآیندهای آپوپتوتیک جلوگیری نماید و بیمار را در مقابل ایجاد POF محافظت نماید. معلوم شده است که استعمال اسفینگوسین ۱- فسفات که یک بازدارنده‌ی آپوپتوزیس است در موش‌های تیمارشده با دوکسوروبیسین تخمک‌ها را از آپوپتوزیس محافظت می کند. آن دسته از تخمک‌های موش فاقد آنزیم ایجاد کننده‌ی سرامید و اسید اسفینگومیلیناز، (یعنی پیامبرهای اولیه در وقایع آپوپتوز)، بسیار به دوکسوروبیسین القاء کننده‌ی آپوپتوزیس مقاومند [۷٦]. اسفینگوسین ۱- فسفات باعث حفظ بارداری در موش‌های ماده‌ی اشعه دیده می‌گردد بدون این که هیچ آسیب ژنومی برای فرزندان ایجاد نماید. [۸۷]

انجماد جنین

انجماد جنین به طور گسترده‌ای در کلینیک‌های ناباروری انجام می‌شود و هزاران تولد در سال از جنین‌های انجمادی حاصل می‌شود. میزان بقاء و لانه گزینی به ترتیب ٪۹۰ و ٪۳۰ نشان می‌دهد که جنین‌های انسانی به شدت به فریز حساس هستند [٦۹]. علاوه بر این، میزان تولد زنده در هر انتقال جنین ۲۰ درصد گزارش شده است، در حالی که میزان بارداری تجمعی از انجماد جنین‌های چندگانه در بیماران نابارور بیش از ٦۰ درصد گزارش شده است [۹۹]. از آنجایی که روش کامل فریز کردن جنین حدود ۲ هفته زمان نیاز دارد، این روش برای زنان مبتلا به سرطان‌های تهاجمی که باید بلافاصله شروع به درمان سرطان کنند گزینه مناسبی نیست. این روش برای زنان دارای سرطان‌های حساس به هورمون نظیر زنانی که سرطان سینه دارند و حساس به استروژن هستند، نیز توصیه نمی‌شود و در دختران نوجوان امکان‌پذیر نیست. در زنان مجرد، اسپرم اهدایی می‌تواند برای ایجاد جنین استفاده شود که با توجه به فرهنگ کشور ما این امکان نیز تا قبل از ازدواج برای آنان وجود ندارد.

انجماد تخمک

انجماد تخمک بسیار مشکل‌تر از انجماد جنین یا اسپرم است. در تخمک به علت حساسیت رشته‌های دوک و محتوای چربی زیادی که در تخمک وجود

[1] Ovarian suppression
[2] Apoptotic inhibitors

دارد حساسیت به سرما بیشتر است. سرما و مواد انجمادی بر اسکلت سلولی تخمک اثر گذاشته و باعث ایجاد آنوپلوئیدی در تخمک می‌شوند. همچنین مواد انجمادی باعث سخت شدن غشاء شفاف در تخمک می‌شوند و بنابراین این تخمک‌ها حتما بایستی با روش تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم بارور شوند. این روش برای خانم‌هایی که همسر ندارند و یا نمی‌خواهند از اسپرم اهدائی استفاده کنند روش مناسبی است. این روش نیز نیاز به تحریک هورمونی تخمدان برای بدست آوردن تخمک‌ها دارد بنابراین نظیر روش انجماد جنین برای خانم‌هایی که سرطان پیشرونده دارند و احتیاج به درمان‌های سریع دارند و یا سرطان های حساس به هورمون و همچنین دخترانی که در سنین قبل از بلوغ هستند کاربردی ندارد. انجماد تخمک می‌تواند در مرحله تخمک‌های بالغ (MII) و یا در مرحله نابالغ (GV) انجام بگیرد.

۱) انجماد تخمک‌های بالغ

اولین تولد زنده از یک تخمک منجمد توسط چن در سال ۱۹۸۳ به دست آمد [۱۱]. در سال ۱۹۸٦ گزارش شده است. با توجه به پیشرفت‌هایی که در تکنیک‌های انجماد و ذوب صورت گرفته است، میزان بارداری با تخمک‌های منجمد به میزان قابل توجهی افزایش یافته است. اخیراً، میزان بقای بالاتر از ٪۹۰ و میزان بارداری (٪٤۰ تا ٪٥٥) در اهدای تخمک گزارش شده است [۱٥]. حتی در برخی از مطالعات هیچ تفاوتی در میزان بارداری یا میزان لانه‌گزینی جنین‌های حاصل شده از تخمک‌های بالغ منجمد در مقایسه با آنهایی که از تخمک‌های تازه حاصل شده‌اند و همچنین تفاوت‌های قابل توجه در اختلالات کروموزومی گزارش نشده است [٤٣،٤٤،٩٦]. در حال حاضر، انجماد تخمک بالغ، بهترین روش حفظ باروری است، اگر فرد در دوره بعد از بلوغ باشد و شیمی درمانی یا پرتودرمانی بتواند به تأخیر انداخته شود.

۲) انجماد تخمک های نابالغ

آسپیراسیون تخمک‌های نابالغ و در ادامه بلوغ آزمایشگاهی تخمک (IVM) راهی است برای بیمارانی که قادر به تحریک تخمدان نیستند، از جمله دختران در سنین پیش از بلوغ، زنان مبتلا به سرطان‌های حساس به هورمون و بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) که نمی توانند به علت سندرم تحریک بیش از حد تخمدان تحت تحریکات هورمونی قرارگیرند. آسپیراسیون تخمک‌های نابالغ این مزیت را دارد که درمان سرطان بلافاصله امکان پذیر است، زیرا در این روش مابه تخمک بالغ نیاز نداریم. علاوه بر این، تصور می‌شود که تخمک‌های نابالغ کمتر از تخمک‌های بالغ دچار تخریب می‌شوند، زیرا تخمک‌های نابالغ فاقد رشته‌های دوک و غشای هسته‌ای هستند. و غشاء هسته از کروماتین محافظت می کند. با این وجود، مطالعات گزارش داده‌اند که تخمک‌های بالغ منجمد شده نتایج بهتری در مقایسه با بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌های نابالغ منجمد دارند [۸۰]. به همین دلیل، تخمک‌های نابالغ اغلب توسط IVM بالغ شده و سپس به صورت تخمک‌های بالغ ذخیره می‌شوند [۸۰, ۱۰۷]. تنها چند گزارش از تولد موفقیت‌آمیز با استفاده از تخمک‌های نابالغ بالغ شده در آزمایشگاه، وجود دارد [۱۲]. تا کنون این تکنیک به طور عمده در بیماران PCOS مورد استفاده قرار گرفته است و در مورد اثربخشی آن در بیماران سرطانی اطلاعاتی در دسترس نیست.

انجماد بافت تخمدان

با وجودی که اولین تلاش‌ها برای فریز کردن بافت تخمدان به علت عدم وجود مواد محافظت کننده انجمادی موثر، عدم وجود ماشین‌های اتوماتیک انجمادی و عدم وجود روش‌های انجمادی موثر کاملا ناموفق و تنها در حدود ۵ درصد بود [۲۰،۸۸،۸۹،٤۸]. اما در دهه‌ی ۱۹۷۰ با دسترس قرار گرفتن مواد محافظت کننده ی انجمادی موثر تر مثل پروپاندیول، اتیلن گلایکول و DMSO [۷۹] و توسعه روش‌های انجماد آهسته موفقیت‌هایی در انجماد بافت تخمدان (۸، ١٤) و باروری در جانوران [٤٦،٥٠،١٠٣،١١٢،١٠٢] حاصل شد. اما علیرغم این پیشرفت‌ها در مورد کاربرد این روش‌ها در انسان شک و تردید وجود داشت، تا این که ابتدا در گوسفند [٤٦, ٤, ٤٧] و سپس در میمون [٦٢] پیوندهای اورتوتوپیک و هتروتوپیک بافت‌های منجمد تخمدانی با موفقیت‌هایی همراه شد. در سال ۲۰۰٤ دونز اولین تولد زنده را پس از پیوند بافت تخمدان منجمد شده انسانی گزارش کرد.

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 اهداء کننده‌ی اسپرم هم نیست. انجماد بافت تخمدان ممکن است بهترین گزینه برای حفظ باروری در 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 بر این، مراکز پزشکی محدودی وجود دارند که در این زمینه تخصص دارند. از آنجا که ذخایر تخمدان یعنی تعداد تخمک‌های نابالغ محصور در فولیکول‌های داخل تخمدان وابسته به سن است، این روش نباید برای زنان بالاتر از سن ۳۹ سال استفاده شود [۱۱۸, ۲۸]. بافت تخمدانی که حاوی فولیکول های متعدد است برداشته می‌شود و بعد از آن می‌تواند 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 فولیکول‌ها 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 آسیب‌های ایسکمیک است. جلوگیری از آسیب انجمادی و کاهش طول مدت ایسکمی از زمان پیوند تا آنژیوژنز برای حفظ فولیکول‌ها و گسترش عملکرد و طول عمر بافت پیوندی ضروری است [۱۱۵].

۱) انجماد برش‌های قشر تخمدان

همان‌طور که ذکر شد، در سال ۲۰۰٤، دونز و همکاران [۲۷] نخستین بارداری موفق و تولد را از پیوند برش‌های قشری منجمد شده تخمدان گزارش کردند. بعد از آنها نیز مایرو و همکارانش در سال ۲۰۰۵ اولین تولد زنده را پس از لقاح آزمایشگاهی تخمک های حاصل از پیوند برش‌های قشری تخمدان منجمد و ذوب شده گزارش کردند [۷۳] و تا به امروز، حداقل ٦۰ تولد زنده از طریق بارداری طبیعی یا IVF پس از پیوند دوباره بافت تخمدان منجمد بدست آمده است. [۲۵]. زنانی که پیوند بافت تخمدان را دریافت می‌کنند، به طور کلی به تحریک کنترل شده تخمدان ضعیف پاسخ می‌دهند، به دلیل این که از ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ فولیکول اولیه‌ای که در بافت پیوند شده تخمدان وجود دارد، بیش از ۵۰٪ آن از دست رفته اند [۲۷]. بازگشت فعالیت تخمدان بالاتر است اگر فولیکول‌های اولیه در بافت پیوند بمانند و احتمال بروز زایمان بعد

از جایگزینی بافت تخمدان تقریبا ۲۰٪ است. به تازگی، اولین مورد از بازگشت باروری موفق بعد از پیوند بافت تخمدان منجمد شده قبل از آغاز قاعدگی گزارش شده است [۲۲]. با توجه به مطالعات منتشر شده در حال حاضر، حدود ٤ تا ٦ ماه پس از پیوند بافت قشر تخمدان، با افزایش استرادیول رشد فولیکول‌ها طول می کشد [۲۹]. این مطلب با دوره ٤ تا ٦ ماه مورد نیاز برای فولیکول اولیه برای پیشرفت به مرحله فولیکول بزرگ آنترال با یک تخمک کاملاً بالغ سازگار است. میزان هورمون تحریک کننده فولیکول (FSH) در فاز فولیکولی بعد از پیوند نسبتاً بالاتر است که می تواند به دلیل تعداد کم فولیکول های اولیه که در بافت های پیوند شده زنده مانده اند، باشد. بعد از پیوند، عملکرد تخمدان در حدود ۵ سال به طور متوسط ادامه می‌یابد [۲۵, ۲٦, ٤۲].

۲) انجماد کل تخمدان

به طور تئوری پیوند کامل تخمدان با آناستوموز عروقی ایده‌آل‌ترین روش برای به حداقل رساندن طول مدت ایسکمی از زمان پیوند تا آنژیوژنز است زیرا اجازه می‌دهد تا گردش خون فوراً پس از پیوند برقرار شود. با این حال پراکندگی مواد انجمادی در سراسر تخمدان به علت حجم زیاد بافت در پستانداران بزرگ یا انسان دشوار است [۳۹]. به دلیل تشکیل کریستال‌های یخ در رگ های خونی آسیب‌های عروقی رخ می‌دهد. به تازگی، مارتینز- مادرید و همکارانش [۷۰] روش انجماد کل تخمدان همراه با رگ‌های خونی را پیشنهاد کردند که میزان بقای بالای فولیکول‌ها (۷۵/۱ درصد)، رگ‌های خونی و ساختار استرومایی را پس از انجماد و ذوب، نشان می‌داد. Bedaiwy و همکارانش [۷] با استفاده از روشی جدید از طریق تزریق از طریق سرخرگ تخمدان، ماده انجمادی را در پارنشیم تخمدان پراکنده کردند و میزان بقای فولیکولی بالایی را پس از انجماد و ذوب کل تخمدان، به دست آوردند. مطالعات بیشتر برای انجماد و پیوند تخمدان کامل در این تکنیک در عمل بالینی ضروری است.

پیوند بافت تخمدان

پیوند بافت تخمدان به روش‌های مختلفی انجام می شود. از نظر مکان پیوند، پیوند می‌تواند به دو روش اورتوتوپیک و یا هتروتوپیک انجام شود.پیوند اورتوتوپیک یعنی بافت یا اندام مورد نظر در مکان طبیعی خود پیوند شود مثلا اگر تخمدان در جای اصلی خود در بدن پیوند شود می‌گویند پیوند اورتوتوپیک تخمدان انجام شده است. اما اگر همین تخمدان در مکان دیگری مثل ماهیچه زیر پوست یا صفاق پیوند شود می‌گویند پیوند هتروتوپیک تخمدان انجام شده است. بدیهی است در نوع دوم امکان بارداری طبیعی و خود به خود وجود نخواهد داشت [۱۱۹].

از نظر فرد دهنده و گیرنده بافت نیز پیوند می‌تواند به انواع مختلفی انجام شود. اگر پیوند از یک گونه به گونه دیگری صورت گیرد این نوع پیوند زنوگرافت نامیده می‌شود. مثلا بافت تخمدان انسان به موش پیوند شود. در این روش بایستی از موش‌هایی که سیستم ایمنیشان سرکوب شده است استفاده کرد. اگر دهنده و گیرنده پیوند از یک گونه باشند این نوع پیوند را آلوگرافت یا اتوگرافت می‌گویند. و اگر گیرنده و دهنده پیوند یک فرد از یک گونه باشد آن را اتولوگ و اگر دهنده پیوند یک فرد و گیرنده فرد دیگری از همان گونه باشد آن را هترولوگ می‌نامند [۳۷].

پیوند اورتوتوپیک بافت تخمدان منجمد بر روی تخمدان این مزیت را دارد که اجازه می دهد تا سیکل طبیعی در یک محیط مناسب برای رشد فولیکولار برقرار شود. هنگامی که تخمدان در حفره لگن باقی می‌ماند، بافت تخمدان زیر کپسول قشری پیوند می‌شود. هنگامی که هیچ تخمدانی باقی نمی‌ماند که در آن پیوند قرار گیرد، بافت در پنجره صفاقی قرار می‌گیرد. در پیوند هتروتوپیک، بافت تخمدان به اماکنی غیر از حفره لگن مثل عضله رکتوم، ماهیچه پکتورالیس، دیواره شکم، پریتونئن، بازو و ساعد پیوند می‌شود [۵۲-۵۵]. و جالب است که در پیوند هتروتوپیک نیز بازگشت عملکرد تخمدان [۸۱, ۸۳] و تکوین جنین [۸۲] گزارش شده است. در سال ۲۰۰۵ Oktay و همکارانش دو بارداری خودبخودی را در یک خانم ۳۲ ساله که پیوند بافت تخمدان را به صورت هترو توپیک در زیر پوست پشت ناحیه Suprapubic دریافت کرده بود گزارش کردند که یکی از بارداری ها منجر به تولد یک دختر سالم در ٤٠ هفته بارداری گردید اما این سوال مطرح گردید که منشأ خودبخود بارداری پس از پیوند تخمدان چه بوده است و بعد از آن فرضیه امکان تجدید سلول‌های بنیادی و مهاجرت پیش آمد[۵۷, ۸٤] در انسان بیشتر گزارش‌های تولد زنده از بافت تخمدان با پیوند اورتوتوپیک است و تنها یک مورد گزارش تولد زنده پس از پیوند هتروتوپیک وجود دارد [۱۰۹].

از پیامدهای پیوند بافت تخمدان عود سرطان اولیه یا تبدیل بافت تخمدانی پیوندی به یک توده بدخیم است. اگرچه بیشتر سرطان هایی که در زنان در سنین باروری اتفاق می‌افتد، به ندرت به تخمدان متاستاز می‌دهند، تومورهای لوبولار در پستان، لوسمی و لنفوم Burkitt اغلب به تخمدان متاستاز می‌دهند. علاوه بر این، خطر تغییر شکل بدخیم بافت تخمدان ممکن است به علل زیر افزایش یابد: تغییرات سریع دما که در طی فرآیند انجماد رخ می‌دهد، در معرض قرار گرفتن با مواد انجمادی و متیلاسیون ناکافی که در طی فرآیند IVM اتفاق می‌افتد [٦٥،١٠١،٣٠،٢٤]. بنابراین، بررسی کامل بافت تخمدان برای تشخیص بیماری بدخیم باقی مانده باید پیش از هر گونه انجماد و پیوند انجام شود. البته این مسأله ممکن است با برداشتن تخمک از بافت تخمدان و سپس بلوغ تخمک در شرایط آزمایشگاهی حل شود. کاربرد انجماد تخمدان و پیوند آن در کودکان سرطانی که فولیکول‌های تخمدان آنها در زمان درمان سرطان نابالغ هستند بسیار با اهمیت است. در مدل‌های موشی بلوغ تخمک در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده اما با موفقیت محدودی همراه بوده است [۱۰۸, ۳٤] در این کودکان بلوغ تخمک‌ها بعد از پیوند بسیار اهمیت پیدا می کند. به تازگی با استفاده از ماتریکس سه بعدی هیدروژل آلژینات که از روی ساختار طبیعی فولیکول در بدن الگوبرداری شده است برای بلوغ تخمک‌های نابالغ موش استفاده شده است که بعد از IVF و لانه گزینی جنین منجر به تولد شده است و نسبت به سیستم کشت دو بعدی مرسوم روش بهتری است [۱۲۵] گرچه مطالعات بیشتر برای تعیین این پیشرفت‌ها ضروری است.

با پیشرفت در درمان سرطان در دوران کودکی، امید به زندگی تا بیش از ۷۵ درصد افزایش یافته است [۹٤]. با این حال، بسیاری از روش‌های درمان سرطان برای غدد جنسی سمی و خطرناک هستند و اثرات سوء بر باروری این دختران در آینده دارند، و این موضوع به نگرانی بزرگی برای بیماران سرطانی و خانواده‌های آنها تبدیل شده است. به علت مسائل

قانونی و اخلاقی، مطالعات اندکی در حفظ باروری در کودکان انجام شده است. با این حال، تعداد کمی از کودکان دردنیا از سال ۱۹۹۸ تحت عمل جراحی لاپاروسکوپی و فریزر قطعات قشر تخمدان قرار گرفته اند. در ایران اولین پیوند بافت تخمدانی در کشور توسط تیم ژنیکولوژی مجتمع آموزشی درمانی حضرت رسول اکرم (ص) و با همکاری پژوهشگاه رویان انجام شد. مشخص شده است که این روش حتی در دختران پیش از بلوغ که میانگین بالاتری از فولیکول های اولیه در هر میلی‌متراز تخمدانشان نسبت به دختران جوان دارند نیز امکان‌پذیر و ایمن است [۹۱, ۹۲].

پیشرفت در انجماد و پیوند تخمدان با بازسازی عملکرد غدد درون ریز [۳۸] و چندین تولد زنده نشان داده شده است. مطالعات بیشتر برای بهینه‌سازی روش‌ها و گسترش کاربرد آن در دختران مبتلا به سرطان در سن قبل از بلوغ مورد نیاز است. به تازگی امکانات تازه برای بازگرداندن باروری از جمله ایجاد سیستم‌های کشت آزمایشگاهی برای بافت غدد جنسی، ایجاد گنادهای مصنوعی، تخمک‌های مصنوعی و استفاده از تخمک‌های حاصل از سلول های بنیادی و به کاربردن سلول‌های بنیادی دودمان زایا مورد بررسی قرار گرفته است که در ادامه به بررسی آنها می‌پردازیم.

روش‌های جدید در حفظ باروری بیماران مبتلا به سرطان

داروهای حفاظت کننده

یکی دیگر از رویکردهای پیشگیری از آسیب تخمدان در درمان سرطان، کاهش سمیت با استفاده از داروهای محافظت کننده است. به تازگی، آگونیست‌های هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) در طی شیمی درمانی به عنوان راهی برای کاهش اثرات سمی درمان سرطان طی رشد فولیکول‌های تخمدان و تخمک‌های محصور شده توسط این فولیکول‌ها استفاده شده است. آگونیست-های GnRH در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز گناد مداخله می‌کنند و عملکرد تخمدان را با سرکوب سطوح گنادوتروپین به مقادیر پیش از بلوغ متوقف می‌کنند. آگونیست های GnRH حداقل به مدت ۱۰ روز قبل از شروع شیمی درمانی به علت شروع اثر فوران اولیه به کار برده می‌شوند و درمان تا ۲ هفته پس از پایان شیمی درمانی ادامه می‌یابد. هنوز مشخص نیست که چگونه آگونیست های GnRH از آسیبی که توسط درمان سرطان درتخمدان ایجاد می‌شود محافظت می‌کنند و یا چگونه باروری را پس از درمان حفظ می‌کنند [۱۲۶] با این وجود، مطالعات اخیر اثرات محافظتی آگونیست‌های GnRH را نشان داده‌اند، که در آنها کاهش شدید آمنوره و نارسایی تخمدان [۷٤, ۲۱] دیده می‌شود.

کشت فولیکول تخمدان در آزمایشگاه

برخی از بیماران مبتلا به سرطان، از جمله افرادی که دچار لوسمی حاد لنفوبلاستی یا لوسمی حاد میلوبلاستیک (AML) هستند، نمی‌توانند درمان سرطان را تأخیر بیندازند و بنابراین نمی‌توانند از روش‌های انجماد جنین و یا تخمک برای حفظ باروری استفاده کنند. انجماد بافت تخمدان، همانطور که در بالا توضیح داده شد، به عنوان یک گزینه جایگزین مورد بررسی قرار گرفته است. با این حال، بافت تخمدان باقی مانده ممکن است حاوی سلول‌های تومور بدخیم مانند سلول‌های لوسمی باشد [۷۲]، که می‌تواند دوباره

در هنگام پیوند بافت به بدن بیماران [۲۳،۹۷،۳۵] وارد شود. اخیراً گزارش شده است که عود سرطان پس از پیوند به بافت تخمدان منجمد ایجاد شده است [۳۵, ٥٤]. برخی مطالعات در موش‌های نر نشان می‌دهند که تجویز مجدد AML 10 سلول قادر به ایجاد لوسمی است [٥٤]. بنابراین، قبل از پیوند بافت های تخمدان منجمد و ذوب شده، باید توجه و بررسی دقیق شود. علاوه بر این، بیماران مبتلا به سرطان پستان که دارای جهش های BRAC1 و BRAC2 هستند، پتانسیل بالقوه افزایش سرطان تخمدان را نیز دارند [١٦]. رویکرد عملی برای کاهش خطر ابتلا به سلول‌های سرطانی به وسیله بافت تخمدان پیوند شده، جداسازی فولیکول‌های منفرد از بافت‌های ذخیره شده، و کشت آنها است. هدف از این روش، بازیابی تخمک‌های کاملاً تکوین یافته از فولیکول‌های کشت شده است که می‌توانند در شرایط آزمایشگاهی بالغ شده و بارور شوند، و جنین‌های زنده برای انتقال به رحم تولید کنند.

تکنیک‌های مکانیکی جدا سازی فولیکول‌های تخمدانی ابتدا در دهه ۱۹۹۰ ایجاد شد و از آن زمان تاکنون بسیار پیشرفت کرده است. فولیکول‌های جدا شده تنها در سیستم‌های دو بعدی (2D) [۱۷] یا سه بعدی (3D) [۱۲۰،۸٦،۱۹]، کشت می‌شوند. به عنوان مثال، فولیکول‌های گاوی در کشت دو بعدی با موفقیت استرادیول تولید کرده و حفره‌های آنترال را تشکیل می‌دهند، این مطلب نشان می‌دهد که کشت دو بعدی قادر به حفظ حیات و عملکرد فولیکول است [۷۱]. گزارش‌های اخیر با استفاده از فولیکول‌های موش صحرایی نشان می‌دهد که سیستم‌های کشت سه بعدی مناسب‌تر از سیستم‌های کشت دو بعدی هستند. این برتری با در نظر گرفتن حفظ مورفولوژی فضایی، سرعت رشد و الگوهای بیان ژن مربوط به تکوین طبیعی تخمک است [۹۸, ۷۷]. روش‌های کشت سه بعدی آزمایشگاهی شبیه محیط فیزیولوژیک اصلی تخمدان در بدن است چرا که این روش‌های کشت مورفولوژی کروی و تعامل سلول با سلول و سلول با ماتریکس خارج سلولی را بین تخمک و سلول های سوماتیک فولیکول حفظ می‌کنند. معلوم شده است که سیستم‌های سه بعدی حیات فولیکولی را بیشتر حفظ می‌کنند، قطر فولیکول و اووسیت در آنها بیشتر افزایش می‌یابد و هورمون استروئیدی بیشتری تولید می‌کنند [۱۲۵،۱۲۳،۱۲٤،۱۲۷،۱۱۳،۱۰] و با موفقیت برای کشت فولیکول‌های موش‌ها [۱۲۵]، بوفالو [۱۰۰]، میمون‌های رزوس [۱۲٤] و انسان‌ها استفاده شده اند [۱۲۳, ٦, ۱۰۵].

پیوند فولیکول تخمدان (تخمدان مصنوعی)

در حالی که کشت فولیکول در محیط آزمایشگاه یک جایگزین برای پیوند بافت تخمدانی را فراهم می‌کند که خطر ابتلای دوباره سلول‌های سرطانی را از بین می‌برد، محققان نیز بر روی توسعه یک "تخمدان مصنوعی" برای پیوند کار کرده‌اند. این تخمدان مصنوعی شامل فولیکول‌های جدا شده از بافت منجمد شده تخمدان بیمار همراه با سایر سلول‌های تخمدانی است که در یک داربست ماتریکس سه بعدی مونتاژ می‌شوند؛ این ساختار باعث می شود که فولیکول‌ها در یک محیط مشابه تخمدان رشد کنند و به طور بالقوه هم باروری و هم عملکرد غدد درون ریز را پس از پیوند در بیمار به حالت اول بازگردانند [٦٦, ۱۰٦،۱۱٦،٦۷] محققان یک داربست زیستی را که با فولیکول‌های جدا شده‌ی تخمدانی موش پر شده بود را با موفقیت رشد دادند [٦٦]. شواهدی از رگزایی در

توده های فیبرین حاوی سلول های تخمدانی که به موش پیوند زده شده بود مشاهده شده است [۱۸]. مطالعات اخیر نشان داده است که یک تخمدان مصنوعی با استفاده از میکروکپسول‌های آلژینات با سلول‌های گرانولوزا و تکای موش صحرایی قادر به تولید هورمون‌های جنسی استروژن و پروژسترون است و وقتی آن سلول‌های تخمدانی اولیه بر روی داربست‌های بدون سلول شده قرار می گیرند موفق به تولید استرادیول می‌شوند [٦١]. این مطالعات نشان دهنده پیشرفت قابل توجه در تکوین تخمدان مصنوعی است نه تنها در بازگرداندن باروری بیماران سرطانی بلکه همچنین برای ارائه یک جایگزین احتمالی برای هورمون درمانی زیرا که تخمدان های مصنوعی به‌طور بالقوه می‌توانند یک سیستم عملکردی آندوکرین را بازگردانند. در ایران در پژوهشگاه رویان نیز تحقیقاتی در این زمینه در حال انجام است و با موفقیت هایی نیز همراه بوده است.در این تحقیقات سعی بر آن است تا از پرده آمنیون، صفاق و بندناف برای کمک به رشد آزمایشگاهی تخمک نابالغ استفاده گردد.[۷۷, ۹۳]

گامت‌های مصنوعی

پیشرفت اخیر در شکل‌گیری گامت‌های مصنوعی، به ویژه گامت‌های حاصل از سلول‌های اجدادی یا سلول‌های سوماتیک، منجر به بحث‌های علمی و اجتماعی در مورد استفاده از آنها در روش های کمک باروری پزشکی شده است (MAR). گامت مصنوعی به طور بالقوه می‌تواند به مردان و زنان نابارور کمک کند، همچنین زنان بعد از یائسگی، افراد مبتلا به سرطان و افرادی که دچار نارسایی زودرس تخمدان شده‌اند، می‌توانند با این روش فرزندان ژنتیکی خود را داشته باشند.

در جانوران، اسپرم مصنوعی و تخمک‌های مصنوعی از سلول‌های بنیادی ژرمینال (GSCs)، سلول‌های بنیادی جنینی (ESCs) و سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPSCs) تولید شده و منجر به تولد فرزندان زنده شده است. همچنین در جانوران، اسپرم مصنوعی و تخمک‌های مصنوعی به طور مستقیم از سلول‌های سوماتیک تولید می‌شود یعنی بدون در نظر گرفتن مراحل بینابینی تکوین سلول‌های زایا یا بنیادی. هر چند در نهایت، جنین‌های حاصل توقف تکوین داشتند. در این روش به‌وسیله انتقال هسته سلول سوماتیک به درون تخمک‌های اهدائی بدون هسته و القاء نصف شدن کروموزم‌ها، تخمک مصنوعی ایجاد می‌شود. در انسان اسپرم مصنوعی از ESCs و iPSCs تولید شده است. تخمک‌های مصنوعی انسانی از GSCs، ESC ها و سلول‌های سوماتیک تولید شده‌اند. باروری یک تخمک مصنوعی انسانی پس از هاپلوئید شدن توسط پیوند هسته سلول‌های سوماتیک به یک تخمک اهداکننده بدون هسته گزارش شده است. پتانسیل رشد طبیعی، پایداری اپی ژنتیکی و ژنتیکی و تولد کودکان پس از استفاده از گامت مصنوعی انسان گزارش نشده است. در موش، تخمک‌های مصنوعی از سلول‌های بنیادی جنینی (ESCs) فرد نر ساخته و بارور شده است [۵۳, ٥٦] همچنین اسپرم مصنوعی ایجاد شده از فرد ماده بارور شده است و منجر به تولد فرزندان زنده شده است. در انسان اسپرم مصنوعی از سلول‌های iPSCs زن تولید شده است. اما تا به امروز هیچ مطلبی درباره تولد فرزند زنده در انسان از گامت مصنوعی گزارش نشده است [۵۳].

استفاده از سلول های بنیادی اووگونی[1]

هنگامی که فولیکول‌های سالم (چه برای رشد فولیکول در محیط in vitro و چه برای ساخت یک تخمدان مصنوعی) نمی‌توانند از بافت تخمدان بیماران مبتلا به سرطان بازیابی شوند، دیگر منابع سلولی که مواد ژنتیکی بیمار را حمل می‌کنند، مثل سلول‌های بنیادی ممکن است راه گشا باشند[۱۲۱]. وجود OSC ها بحث برانگیز است، با این حال یکی دیگر از منابع بالقوه می‌تواند تخمک‌های حاصل از سلول‌های بنیادی جنینی (ES) یا سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده (iPS) باشد [۱۲۹]. این روش در موش‌های نر موفق بوده است و اسپرم طبیعی از سلول‌های ES ساخته شده است[۵۲]. اخیراً در مطالعه ای، تولید تخمک‌ها از سلول‌های ES ، در موش‌ها نیز گزارش شده است [۵۱]. همچنین در سال۲۰۰٤ در ژورنال نیچر Joshua Johnson و همکارانش حضور سلول‌های بنیادی زایای تکثیر شونده‌ای را که تولید تخمک و فولیکول را در تخمدان پستانداران بعد از تولد حفظ می‌کنند را گزارش کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که در تخمدان سلول‌های بنیادی وجود دارد که حتی بعد از تولد نیز قادر به ایجاد تخمک و فولیکول هستند در صورتیکه عقیده کلی که در گذشته وجود داشت این بود که پستانداران ماده طی دوره جنینی ظرفیت بازسازی سلول‌های زایا را طی زندگی جنینی از دست می‌دهند، به طوری که در هنگام تولد دارای تعداد ثابتی از سلول‌های زایا (اووسیت) در داخل فولیکول‌ها هستند. [۵۷] این یافته ها این مفهوم را اثبات می‌کند که بایستی از روش‌هایی که در آینده قادر به تولید تخمک‌های جدید برای بیماران مبتلا به سرطان هستند حمایت شود. همچنین این روش‌ها می‌توانند در درمان POF[2] کاربرد داشته باشند.

فعال‌کردن فولیکول‌های تخمدان در محیط آزمایشگاهی

بافت‌های تخمدان جمع‌آوری شده از بیماران مبتلا به سرطان در مرحله پیش از بلوغ شامل فولیکول‌های نابالغ اولیه هستند که باید برای ورود به گروه فولیکولی رو به رشد و ایجاد تخمک‌های بالغ بارور فعال شوند. همین امر در مورد بافت تخمدان بیماران مبتلا به نارسایی اولیه تخمدانی که ذخیره تخمدان آنها کاهش یافته است نیز صادق است [۷۸]. محققان در القای فعال‌سازی فولیکول‌های اولیه با استفاده از تکنیک‌های قطعه قطعه کردن تخمدان، سوراخ کردن آن و لیزر موفق بوده‌اند [۳٦]. این روش ها مسیر سیگنالینگ Hippo را در تخمدان مختل می‌کند و پلیمریزاسیون اکتین را در سلول‌های سوماتیک و گرانولوزا افزایش می‌دهد و باعث رشد فولیکول‌های اولیه در ذخایر تخمدان و فعال شدن آنها می–شود [۵۹, ۵۵]. این کار بر این فرضیه تأکید دارد که فولیکول‌های تخمدانی اولیه بوسیله سلول‌های اطراف رشد شان محدود می شود و سیگنالینگ محلی Hippo مکان قرارگیری فولیکول‌های در حال رشد و ارتباطات بین فولیکولی را تنظیم می‌کند [۵]. همانطور که می دانید مسیر Hippo کنترل اندازه اندام را از طریق تنظیم تکثیر سلولی و تنظیم آپوپتوز بر عهده دارد. همچنین PTEN پروتئینی است که توسط ژن PTENکد می‌شود این ژن یک تومور ساپرسور است و جهش در این ژن باعث ایجاد انواع سرطان می‌شود. از این رو تیمار فولیکول‌ها با فعال کننده‌های Akt، فعال کننده‌های PI3K و مهار کننده های PTEN قبل از استفاده آنها در

[1] Oogonial stem cells

[2] Premature ovarian failure

پیوند باعث غعال شدن آنها می‌شود [۱،۱۳،٦٤،۱۱۱] این رویکرد منجر به تولد زنده موفق شده است.

استفاده از دارو ها برای بافت هدف خاص

۱) استفاده از نانوذرات

محققان همچنان به دنبال یافتن راه‌های بهتر برای محافظت از تخمک‌ها از اثرات سمی درمان سرطان هستند. یکی از رویکردها این است که داروهای شیمی درمانی داخل نانو ذرات قرار گیرند. این ذرات به طور خاص سلول های سرطانی را هدف قرار می دهند [۲, ۳] در نتیجه میزان این داروها در پلاسما و سمیت آنها برای بافت‌های غیر هدف مانند تخمدان کاهش می‌یابد. این استراتژی را می‌توان برای سایر شیمی درمانی ها هم اعمال کرد تا به طور خاص سلول های سرطانی را هدف قرار دهد و محافظت از گناد را نیز فراهم کند.

۲) استفاده از واکنش دهنده‌های محافظتی

سایر مطالعات به منظور توسعه داروهای محافظت کننده است که می تواند سلول‌های سرطانی را از بین ببرد، اما از تخمک‌ها در برابر شیمی درمانی و رادیوتراپی محافظت کند. برخی از این داروهای محافظت کننده شامل AS101، T3، S1P، G-CSFو تاموکسیفن هستند. این داروها داروهای شیمی درمانی مهارکننده آپوپتوزی هستند. معلوم شده است که داروی مسیلات از طریق اتصال به پروتئین تیروزین کیناز C-Abl از اووسیت محافظت می‌کند [٤٥, ۱۲۲]. همچنین مشخص شده است c-Abl که توسط آسیب DNA ایجاد شده توسط تابش یا سیسپلاتین تنظیم مثبت می‌شود و مسیرهای آپوپتوز را تحریک می‌کند. TAp63 در پایین دست c-Abl قرار دارد و عامل اصلی در مرگ اووسیت اولیه است [۱۱۰،٦۰]، مطالعات بیشتری برای درک رابطه c-Abl در مرگ تخمک یا برای تنظیم مستقیم رابطه بین c-Abl و TAp63 مورد نیاز است.

AS101 به عنوان یک ایمونومدولاتور شناخته شده است که از طریق کاهش آپوپتوز و کاهش تنظیم مسیر PI3K / PTEN / AKT، در تعداد زیادی از فولیکول های در حال رشد بزرگ که با Cy و AS101 تیمار شده اند باعث محافظت از تخمک‌ها می‌شود. در این مطالعه زمانی که موش‌ها را با Cy و AS101 تیمار کردند نسبت به گروهی که با Cy به تنهایی تیمار شده بودند تعداد بیشتری تولد داشتند [۵۸]. این یافته نشان می‌دهد که AS101 می‌تواند فعال‌سازی و رشد غیر طبیعی فولیکول‌های ناشی از درمان با Cy را مسدود کند. مهمتر از همه، آزمایشات بالینی نشان داده‌اند که AS101 برای انسان‌ها مضر نیست. با این حال، تحقیقات بیشتری برای تعیین این که چگونه Cy فولیکول‌های اولیه را بدون ایجاد آپوپتوز فعال می‌کند، مورد نیاز است. هورمون تیروئید (T3)، دارای اثرات ضد آپوپتوزی در سلول‌های مختلف است و از سلول-های گرانولوزا در برابر آپوپتوز ناشی از پاکلیتاکسل[1] محافظت می‌کند [۱۱۷]. با این حال، هیچ شواهدی از اثرات محافظتی T3 در برابر شیمی درمانی وجود ندارد، که نیازمند تحقیقات بیشتر است. S1P[2] مهارکننده هیدرولیز اسفنگومیلین است که آپوپتوز را در سلول القا می‌کند. پیش درمان با S1P FTY720 اثرات محافظتی در برابر هر دو روش پرتودرمانی و داروهای شیمی درمانی مثل داکربازین (DIC یا DTIC) دارد [٤۹]. این اثر در بافت تخمدان انسانی با

[1] paclitaxel
[2] Sphingoshine-1-phosphate

پیش درمانی با S1P و در ادامه درمان با Cy و دوکسوروبیسین (DXR) تایید شد [٦٣, ٩٠]. در میمون‌های ماکاکو نتایج امیدوار کننده بود، در آنها از درمان با S1P وقتی که در معرض تابش اشعه بودند، استفاده شد و با این حال تولد زنده داشتند[١٢٨]. مکانیزمی کهS1P به وسیله آن از تخمدان پریماتها در برابر آسیب سیتوتوکسیک در in vivo محافظت می‌کند، هنوز تعیین نشده است. علاوه بر این، S1P باید به طور مستقیم در تخمدان به کار برده شود، که چالشی در درمان‌های کلینیکی است.

فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیت (G-CSF) از دست دادن فولیکول‌های اولیه را که در اثر Cy، بیوسولفان و سیس پلاتین ایجاد می‌شود را از طریق محافظت از عروق خونی تخمدان کاهش می‌دهد. با وجود نتایج خوش بینانه ای که اثر محافظتی G-CSF در برابر شیمی درمانی نشان می‌دهد، مکانیسمی که G-CSF توسط آن ازعروق خونی محافظت می‌کند هنوز شناخته‌شده نیست. همچنین معلوم شده است که، تاموکسیفن اثرات محافظتی در مقابل از دست دادن فولیکول‌های ناشی از Cy، 7، 12-dimethylbenzanthracene و DXR در تخمدان‌های موش [١١٤] و در برابر پرتو درمانی در تخمک‌ها دارد [٦٨]. به طور خلاصه، این داده‌ها چندین عامل حفاظت کننده امکان‌پذیر را معرفی می‌کنند که می توانند در آینده‌ای نزدیک تخمک را در مقابل شیمی درمانی و یا پرتودرمانی محافظت کنند.

نتیجه‌گیری

همان طور که تعداد بیماران مبتلا به سرطان که بعد از بیماری خود زنده مانده‌اند، افزایش یافته است نگرانی‌های مربوط به کیفیت زندگی در این بیماران در حال افزایش است. زنان جوان مبتلا به سرطان به خصوص در مورد توانایی خود در داشتن یک خانواده در آینده به عنوان بخشی از کیفیت زندگی و همچنین حفظ عملکرد غدد درون ریز برای سلامت خود، نگران هستند. گزینه‌های بسیاری برای کمک به این بیماران وجود دارد، با استفاده از تکنولوژی های موجود که به طور گسترده‌ای در دسترس هستند و همچنین تکنیک‌های تحقیقاتی می‌توان به این بیماران کمک کرد. تکنیک‌های جدید برای کاهش اثرات منفی درمان سرطان، محافظت از عملکرد تخمدان و حفظ باروری درحال توسعه است. بنابراین بایستی با رویکردهای پزشکی دقیق به افرادی که سرطان در آنها تشخیص داده شده است علاوه بر گوشزد کردن ریسک ناباروری در درمان‌های سرطان ، بهترین و مناسب ترین گزینه برای حفظ باروری، به هر یک از بیماران و اعضای خانواده‌ی آنها، توسط مشاوران و ارائه دهندگان خدمات درمانی ارائه شود.

منابع

[1] Adhikari D, Gorre N, Risal S, Zhao Z, Zhang H, Shen Y, Liu K.(2012), The safe use of a PTEN inhibitor for the activation of dormant mouse primordial follicles and generation of fertilizable eggs. PloS one, 7(6):e39034.

[2] Ahn RW, Barrett SL, Raja MR, Jozefik JK, Spaho L, Chen H, Bally MB, Mazar AP, Avram MJ, Winter JN.(2013), Nano-encapsulation of arsenic trioxide enhances efficacy against murine lymphoma model while minimizing its impact on ovarian reserve in vitro and in vivo. PloS one, 8(3):e58491.

[3] Ahn RW, Chen F, Chen H, Stern ST, Clogston JD, Patri AK, Raja MR, Swindell EP, Parimi V, Cryns VL et al.(2010), A novel nanoparticulate formulation of arsenic trioxide with enhanced therapeutic efficacy in a murine model of breast

cancer. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research, 16(14):3607-3617.

[4] Baird D, Webb R, Campbell B, Harkness L, Gosden R.(1999), Long-Term Ovarian Function in Sheep after Ovariectomy and Transplantation of Autografts Stored at−196 C** This work was supported by Medical Research Council Program Grant 8929853. Endocrinology, 140(1):462-471.

[5] Baker SJ, Spears N.(1999), The role of intra-ovarian interactions in the regulation of follicle dominance. Human reproduction update, 5(2):153-165.

[6] Barrett SL, Shea LD, Woodruff TK. (2010), Noninvasive index of cryorecovery and growth potential for human follicles in vitro. Biology of reproduction, 82(6):1180-1189.

[7] Bedaiwy MA, Hussein MR, Biscotti C, Falcone T.(2006), Cryopreservation of intact human ovary with its vascular pedicle. Human Reproduction, 21 (12): 3258-3269.

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

[9] Blumenfeld Z. (2002), Preservation of fertility and ovarian function and minimalization of chemotherapy associated gonadotoxicity and premature ovarian failure: the role of inhibin-A and-B as markers. Molecular and cellular endocrinology, 187 (1): 93-105.

[10] Brito IR, Lima IM, Xu M, Shea LD, Woodruff TK, Figueiredo JR. (2014), Three-dimensional systems for in vitro follicular culture: overview of alginate-based matrices. Reproduction, Fertility and Development, 26(7):915-930.

[11] Chen C. (1986), Pregnancy after human oocyte cryopreservation. The Lancet, 327(8486):884-886.

[12] Chen H, Lv J-Q, Ge H-S, Wu X-M, Xi H-T, Chi H-H, Zhu C-F, Huang J-Y. (2014), Live birth following vitrification of in vitro matured oocytes derived from sibling smaller follicles at follicle selection phase in the context of in vitro fertilization. Gynecological Endocrinology, 30(9):624-626.

[13] Cheng Y, Kim J, Li XX, Hsueh AJ. (2015), Promotion of ovarian follicle growth following mTOR activation: synergistic effects of AKT stimulators. PloS one, 10 (2): e0117769.

[14] Clough KB, Goffinet F, Labib A, Renolleau C, Campana F, Rochefordiere Adl, Durand JC. (1996), Laparoscopic unilateral ovarian transposition prior to irradiation: prospective study of 20 cases. Cancer, 77(12):2638-2645.

[15] Cobo A, Garcia-Velasco JA, Domingo J, Remohí J, Pellicer A. (2013), Is vitrification of oocytes useful for fertility preservation for age-related fertility decline and in cancer patients? Fertility and sterility, 99 (6): 1485-1495.

[16] Colgan TJ, Murphy J, Cole DE, Narod S, Rosen B. (2001), Occult carcinoma in prophylactic oophorectomy specimens: prevalence and association with BRCA germline mutation status. The American journal of surgical pathology, 25 (10): 1283-1289.

[17] Cortvrindt R, Smitz J, Van Steirteghem A. (1996), Ovary and ovulation: In-vitro maturation, fertilization and embryo development of immature oocytes from early preantral follicles from prepuberal mice in a simplified culture system. Human Reproduction, 11(12): 2656-2666.

[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] De Vos M, Smitz J, Woodruff TK. (2014), Fertility preservation in women with cancer. The Lancet, 384(9950):1302-1310.

[20] 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.

[21] Del Mastro L, Ceppi M, Poggio F, Bighin C, Peccatori F, Demeestere I, Levaggi A, Giraudi S, Lambertini M, D'Alonzo A. (2014), Gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian

failure in cancer women: systematic review and meta-analysis of randomized trials. Cancer treatment reviews, 40 (5): 675-683.

[22] Demeestere I, Simon P, Dedeken L, Moffa F, Tsépélidis S, Brachet C, Delbaere A, Devreker F, Ferster A. (2015), Live birth after autograft of ovarian tissue cryopreserved during childhood. Human reproduction, 30(9):2107-2109.

[23] Dolmans M-M, Jadoul P, Gilliaux S, Amorim CA, Luyckx V, Squifflet J, Donnez J, Van Langendonckt A. (2013), A review of 15 years of ovarian tissue bank activities. Journal of assisted reproduction and genetics, 30(3):305-314.

[24] Dolmans M-M, Luyckx V, Donnez J, Andersen CY, Greve T. (2013), Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. Fertility and sterility, 99(6):1514-1522.

[25] Donnez J, Dolmans M-M.2015), Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. Journal of assisted reproduction and genetics, 32(8): 1167-1170.

[26] Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, Ernst E, Luyckx V, Andersen CY. (2013), Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. Fertility and sterility, 99 (6): 1503-1513.

[27] Donnez J, Dolmans M-M. (2004), Livebirth after cryopreserved ovarian tissue autotransplantation. The Lancet, 364 (9451): 2092-2093.

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

[29] Donnez J, Jadoul P, Squifflet J, Van Langendonckt A, Donnez O, Van Eyck AS, Marinescu C, Dolmans MM. (2010), Ovarian tissue cryopreservation and transplantation in cancer patients. Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology, 24 (1): 87-100.

[30] Dudzinski DM. (2004), Ethical issues in fertility preservation for adolescent cancer survivors: oocyte and ovarian tissue cryopreservation. Journal of pediatric and adolescent gynecology, 17(2): 97-102.

[31] Eimani H, Siadat SF, Eftekhari-Yazdi P, Parivar K, Rezazadeh Valojerdi M, Shahverdi A. (2009), Autologous transplantation of Intact mouse ovaries in gluteus superficialis muscle. Yakhteh Medical Journal, 11 (2): 184-189.

[32] Eimani H, Siadat SF, Eftekhari-Yazdi P, Parivar K, Valojerdi MR, Shahverdi A. (2009), Comparative study between intact and non-intact intramuscular auto-grafted mouse ovaries. Reproductive biomedicine online, 18 (1): 53-60.

[33] Elis A, Tevet A, Yerushalmi R, Blickstein D, Bairy O, Dann EJ, Blumenfeld Z, Abraham A, Manor Y, Shpilberg O. (2006), Fertility status among women treated for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Leukemia & lymphoma, 47 (4): 623-627.

[34] Eppig JJ, O'Brien MJ. (1996), Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. Biology of reproduction, 54 (1): 197-207.

[35] Ernst EH, Offersen BV, Andersen CY, Ernst E. (2013), Legal termination of a pregnancy resulting from transplanted cryopreserved ovarian tissue due to cancer recurrence. Journal of assisted reproduction and genetics, 30 (7): 975-978.

[36] Farquhar C, Brown J, Marjoribanks J. (2012), Laparoscopic drilling by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. The Cochrane database of systematic reviews: (6) CD001122.

[37] Fathi R, Rezazadeh Valojerdi M, Salehnia M, Ebrahimi B, SalmanYazdi R. (2014), Ovarian Tissue Transplantation: Advantages, Disadvantages and Upcoming Challenges (A Review Article). Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 24 (113): 253-265.

[38] Fathi R, Rezazadeh Valojerdi M, Salehnia M, Najar Asl M, Totonchi M, Salman Yazdi R, Ebrahimi B. (2014), A review on the activity of hormons and growth factors after ovarian tissue transplantation. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology, 17 (2): 1-12.

[39] Fathi R, Rezazadeh Valojerdi M, Totonchi M, Deheshkar Farahani N, Ebrahimi B, Shabani F, Borjian Boroujeni P. (2014), A Review on the Activity of Angiogenic and Apoptotic Factors in Transplanted Ovarian Tissue. SSU_Journals, 22 (3): 1285-1298.

[40] Fathi R, Valojerdi MR, Ebrahimi B, Eivazkhani F, Akbarpour M, Tahaei LS, Abtahi NS. (2017), Fertility Preservation in Cancer Patients: In Vivo and In Vitro Options. Cell Journal, 19 (2):173.

[41] Fathi R, Valojerdi MR, Salehnia M, Najar-Asl M, Totonchi M, Yazdi RS, Ebrahimi B. (2014), A Review on the Activity of Hormones and Growth Factors after Ovarian Tissue Transplantation. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology, 17 (2).

[42] Fathi R, Valojerdi MR, Salehnia M. (2013), Effects of different cryoprotectant combinations on primordial follicle survivability and apoptosis incidence after vitrification of whole rat ovary. CryoLetters, 34 (3): 228-238.

[43] Forman EJ, Li X, Ferry KM, Scott K, Treff NR, Scott RT. (2012), Oocyte vitrification does not increase the risk of embryonic aneuploidy or diminish the implantation potential of blastocysts created after intracytoplasmic sperm injection: a novel, paired randomized controlled trial using DNA fingerprinting. Fertility and sterility, 98 (3): 644-649

[44] Goldman KN, Kramer Y, Hodes-Wertz B, Noyes N, McCaffrey C, Grifo JA. (2015), Long-term cryopreservation of human oocytes does not increase embryonic aneuploidy. Fertility and sterility, 103 (3): 662-668.

[45] Gonfloni S, Di Tella L, Caldarola S, Cannata SM, Klinger FG, Di Bartolomeo C, Mattei M, Candi E, De Felici M, Melino G et al. (2009), Inhibition of the c-Abl-TAp63 pathway protects mouse oocytes from chemotherapy-induced death. Nature medicine, 15 (10): 1179-1185.

[46] Gosden R, Boulton M, Grant K, Webb R. (1994), Follicular development from ovarian xenografts in SCID mice. Journal of reproduction and fertility, 101(3): 619-623.

[47] Gosden RG, Mullan J, Picton HM, Yin H, Tan S-L. (2002), Current perspective on primordial follicle cryopreservation and culture for reproductive medicine. Human reproduction update, 8 (2): 105-110.

[48] 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.

[49] Hancke K, Strauch O, Kissel C, Gobel H, Schafer W, Denschlag D. (2007), Sphingosine 1-phosphate protects ovaries from chemotherapy-induced damage in vivo. Fertility and sterility, 87(1): 172-177.

[50] Harp R, Leibach J, Black J, Keldahl C, Karow A. (1994), Cryopreservation of murine ovarian tissue. Cryobiology, 31 (4): 336-343.

[51] Hayashi K, Ogushi S, Kurimoto K, Shimamoto S, Ohta H, Saitou M. (2012), Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell–like cells in mice. Science, 338 (6109): 971-975.

[52] Hayashi K, Ohta H, Kurimoto K, Aramaki S, Saitou M. (2011), Reconstitution of the mouse germ cell specification pathway in culture by pluripotent stem cells. Cell, 146 (4): 519-532.

[53] Hendriks S, Dancet EA, van Pelt AM, Hamer G, Repping S. (2015), Artificial gametes: a systematic review of biological progress towards clinical application. Human reproduction update, 21(3):285-296.

[54] Hermann BP, Sukhwani M, Salati J, Sheng Y, Chu T, Orwig KE. (2011), Separating spermatogonia from cancer cells in contaminated prepubertal primate testis cell suspensions. Human Reproduction, 26 (12): 3222-3231.

[55] Hsueh AJ, Kawamura K, Cheng Y, Fauser BC. (2015), Intraovarian control of early folliculogenesis. Endocrine reviews, 36 (1): 1-24.

[56] Hübner K, Fuhrmann G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, Wood J, Strauss JF, Boiani M, Schöler HR. (2003), Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. Science, 300 (5623): 1251-1256.

[57] Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. (2004), Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. Nature, 428 (6979): 145-150.

[58] Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, Fishel-Bartal M, Ligumsky H, Paglin S, Wolf I, Kanety H, Sredni B, Meirow D. (2013), Cyclophosphamide triggers follicle activation and "burnout"; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility. Science translational medicine, 5(185):185ra162.

[59] Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, Deguchi M, Sato Y, Takae S, Ho CH, Kawamura N, Tamura M, Hashimoto S et al. (2013), Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110(43):17474-17479.

[60] Kim S-Y, Cordeiro M, Serna V, Ebbert K, Butler LM, Sinha S, Mills AA, Woodruff TK, Kurita T. (2013), Rescue of platinum-damaged oocytes from programmed cell death through inactivation of the p53 family signaling network. Cell death and differentiation, 20 (8): 987.

[61] Laronda MM, Jakus AE, Whelan KA, Wertheim JA, Shah RN, Woodruff TK. (2015) Initiation of puberty in mice following decellularized ovary transplant. Biomaterials, 50: 20-29.

[62] Lee D, Yeoman R, Battaglia D, Stouffer R, Zelinski-Wooten M, Fanton J, Wolf D. (2004), Live birth after ovarian tissue transplant. Nature, 428 (6979): 137-138

[63] 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.

[64] Li J, Kawamura K, Cheng Y, Liu S, Klein C, Liu S, Duan EK, Hsueh AJ. (2010), Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107 (22): 10280-10284.

[65] Lucifero D, Mertineit C, Clarke HJ, Bestor TH, Trasler JM. (2002), Methylation dynamics of imprinted genes in mouse germ cells. Genomics, 79 (4): 530-538.

[66] Luyckx V, Dolmans MM, Vanacker J, Legat C, Fortuno Moya C, Donnez J, Amorim CA. (2014), A new step toward the artificial ovary: survival and proliferation of isolated murine follicles after autologous transplantation in a fibrin scaffold. Fertility and sterility, 101 (4): 1149-1156.

[67] Luyckx V, Dolmans MM, Vanacker J, Scalercio SR, Donnez J, Amorim CA. (2013), First step in developing a 3D biodegradable fibrin scaffold for an artificial ovary. J Ovarian Res, 6 (1): 83.

[68] Mahran YF, El-Demerdash E, Nada AS, Ali AA, Abdel-Naim AB.(2013), Insights into the protective mechanisms of tamoxifen in radiotherapy-induced ovarian follicular loss: impact on insulin-like growth factor 1. Endocrinology, 154 (10): 3888-3899.

[69] Mandelbaum J, Belaisch-Allart J, Junca A-M, Antoine J-M, Plachot M, Alvarez S, Alnot M-O, Salat-Baroux J.(1998), Cryopreservation in human assisted reproduction is now routine for embryos but remains a research procedure for oocytes. Human Reproduction, 13 (suppl_3): 161-174.

[70] Martinez-Madrid B, Camboni A, Dolmans M-M, Nottola S, Van Langendonckt A, Donnez J. (2007), Apoptosis and ultrastructural assessment after cryopreservation of whole human ovaries with their vascular pedicle. Fertility and sterility, 87 (5): 1153-1165.

[71] McLaughlin M, Bromfield J, Albertini D, Telfer E. (2010), Activin promotes follicular integrity and oogenesis in cultured pre-antral bovine follicles. Molecular human reproduction, 16 (9): 644-653.

[72] Meirow D, Hardan I, Dor J, Fridman E, Elizur S, Ra'anani H, Slyusarevsky E, Amariglio N, Schiff E, Rechavi G. (2008), Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients. Human Reproduction, 23 (5): 1007-1013.

[73] Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, Schiff E, Dor J. (2005), Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. New England Journal of Medicine, 353 (3): 318-321.

[74] Moore HC, Unger JM, Phillips K-A, Boyle F, Hitre E, Porter D, Francis PA, Goldstein

LJ, Gomez HL, Vallejos CS. (2015), Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. New England Journal of Medicine, 372 (10): 923-932.

[75] Morice P, Juncker L, Rey A, El-Hassan J, Haie-Meder C, Castaigne D. (2000), Ovarian transposition for patients with cervical carcinoma treated by radiosurgical combination. Fertility and sterility, 74 (4): 743-748.

[76] Morita Y, Perez GI, Paris F, Miranda SR, Ehleiter D, Haimovitz-Friedman A, Fuks Z, Xie Z, Reed JC, Schuchman EH. (2000), Oocyte apoptosis is suppressed by disruption of the acid sphingomyelinase gene or by sphingosine-1-phosphate therapy. Nature medicine, 6 (10): 1109.

[77] Motamed M, Sadr Z, Valojerdi M, Moini A, Oryan S, Totonchi M, Ebrahimi B, Maroufizadeh S, Taghiabadi E, Fathi R. (2017), Tissue engineered human amniotic membrane application in mouse ovarian follicular culture. Annals of Biomedical Engineering: 1-12.

[78] Nelson LM. (2009), Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. The New England journal of medicine, 360 (6): 606-614.

[79] 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.

[80] Oktay K, Buyuk E, Rodriguez-Wallberg K, Sahin G. (2010), In vitro maturation improves oocyte or embryo cryopreservation outcome in breast cancer patients undergoing ovarian stimulation for fertility preservation. Reproductive biomedicine online, 20 (5): 634-638.

[81] Oktay K, Buyuk E, Rosenwaks Z, Rucinski J. (2003), A technique for transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. Fertility and sterility, 80 (1): 193-198.

[82] Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, Opsahl M, Rosenwaks Z. (2004), Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. The Lancet, 363 (9412): 837-840.

[83] Oktay K, Economos K, Kan M, Rucinski J, Veeck L, Rosenwaks Z. (2001), Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. Jama, 286 (12): 1490-1493.

[84] Oktay K. (2006), Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection? Human Reproduction, 21 (6): 1345-1348.

[85] Pacheco BP, Ribas JM, Milone G, Fernandez I, Kvicala R, Mila T, Di Noto A, Ortiz OC, Pavlovsky S. (2001), Use of GnRH analogs for functional protection of the ovary and preservation of fertility during cancer treatment in adolescents: a preliminary report. Gynecologic oncology, 81 (3): 391-397.

[86] Pangas SA, Saudye H, Shea LD, Woodruff TK. (2003), Novel approach for the three-dimensional culture of granulosa cell–oocyte complexes. Tissue engineering, 9 (5): 1013-1021.

[87] Paris F, Perez GI, Fuks Z, Haimovitz-Friedman A, Nguyen H, Bose M, Ilagan A, Hunt PA, Morgan WF, Tilly JL. (2002), Sphingosine 1-phosphate preserves fertility in irradiated female mice without propagating genomic damage in offspring. Nature medicine, 8 (9): 901-902.

[88] Parkes A. (1952), Preservation of living cells at low temperatures. Lectures on the scientific basis of medicine, 2: 250.

[89] Parkes A. (1957), Viability of ovarian tissue after freezing. Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 147 (929): 520-528.

[90] Perez GI, Knudson CM, Leykin L, Korsmeyer SJ, Tilly JL. (1997), Apoptosis-associated signaling pathways are required for chemotherapy-mediated female germ cell destruction. Nature medicine, 3 (11): 1228-1232.

[91] Poirot C, Vacher-Lavenu M-C, Helardot P, Guibert J, Brugières L, Jouannet P. (2002), Human ovarian tissue cryopreservation: indications and feasibility. Human Reproduction, 17 (6): 1447-1452.

[92] Poirot CJ, Martelli H, Genestie C, Golmard JL, Valteau-Couanet D, Helardot P, Pacquement H, Sauvat F, Tabone MD, Philippe-Chomette P. (2007), Feasibility of

ovarian tissue cryopreservation for prepubertal females with cancer. Pediatric blood & cancer, 49 (1): 74-78.

[93] Rajabzadeh AR, Eimani H, Koochesfahani HM, Shahvardi A-H, Fathi R. (2015), Morphological study of isolated ovarian preantral follicles using fibrin gel plus platelet lysate after subcutaneous transplantation. Cell Journal (Yakhteh) 5, 17 (1): 145.

[94] Reaman GH. (2002), Pediatric oncology: current views and outcomes. Pediatric Clinics of North America, 49 (6): 1305-1318.

[95] Rezazadeh Valojerdi M, Fathi R, Siadat SF. (2016), Fertility Preserving in females Based on cellular and molecular approaches. Book, Royan Institiute publication:Tehran, 64-102.

[96] Rienzi L, Romano S, Albricci L, Maggiulli R, Capalbo A, Baroni E, Colamaria S, Sapienza F, Ubaldi F. (2009), Embryo development of fresh 'versus' vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. Human Reproduction, 25 (1): 66-73.

[97] Rosendahl M, Greve T, Andersen CY. (2013), The safety of transplanting cryopreserved ovarian tissue in cancer patients: a review of the literature. Journal of assisted reproduction and genetics, 30 (1): 11-24.

[98] Sadr SZ, Ebrahimi B, Shahhoseini M, Fatehi R, Favaedi R. (2015), Mouse preantral follicle development in two-dimensional and three-dimensional culture systems after ovarian tissue vitrification. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 194: 206-211.

[99] Senn A, Vozzi C, Chanson A, De Grandi P, Germond M. (2000), Prospective randomized study of two cryopreservation policies avoiding embryo selection: the pronucleate stage leads to a higher cumulative delivery rate than the early cleavage stage. Fertility and sterility, 74 (5): 946-952.

[100] Sharma GT, Dubey PK, Meur S. (2009), Survival and developmental competence of buffalo preantral follicles using three-dimensional collagen gel culture system. Animal reproduction science, 114(1):115-124.

[101] Shaw J, Bowles J, Koopman P, Wood E, Trounson A. (1996), Ovary and Ovulation: Fresh and cryopreserved ovarian tissue samples from donors with lymphoma transmit the cancer to graft recipients. Human Reproduction, 11 (8): 1668-1673.

[102] Shaw J, Cox S-L, Trounson A, Jenkin G. (2000), Evaluation of the long-term function of cryopreserved ovarian grafts in the mouse, implications for human applications. Molecular and cellular endocrinology, 161 (1): 103-110.

[103] Shaw SL, Quatrano RS. (1996), The role of targeted secretion in the establishment of cell polarity and the orientation of the division plane in Fucus zygotes. Development, 122 (9): 2623-2630.

[104] Siadat SF, Eimani H, Eftekhari-Yazdi P, Parivar K. (2008), Follicular preserving of incised transplanted ovary to mouse gluteus superficialis muscle. Science Reaserch Biology Journal of Islamic Azad University Garmsar Branch, 2 (4): 1-8.

[105] Skory RM, Xu Y, Shea LD, Woodruff TK. (2015), Engineering the ovarian cycle using in vitro follicle culture. Human Reproduction, 30 (6): 1386-1395.

[106] Soares M, Sahrari K, Chiti M, Amorim C, Ambroise J, Donnez J, Dolmans M-M. (2015),The best source of isolated stromal cells for the artificial ovary: medulla or cortex, cryopreserved or fresh? Human Reproduction, 30(7):1589-1598.

[107] Son W-Y, Park S-E, Lee K-A, Lee W-S, Ko J-J, Yoon T-K, Cha K-Y. (1996), Effects of 1, 2-propanediol and freezing-thawing on the in vitro developmental capacity of human immature oocytes. Fertility and sterility, 66 (6): 995-999.

[108] Spears N, Boland NI, Murray AA, Gosden RG. (1994), Mouse oocytes derived from in vitro grown primary ovarian follicles are fertile. Human Reproduction, 9 (3): 527-532.

[109] Stern C, Gook D, Hale L, Agresta F, Oldham J, Rozen G, Jobling T. (2013), First reported clinical pregnancy following heterotopic grafting of cryopreserved ovarian tissue in a woman after a bilateral oophorectomy. Human Reproduction, 28 (11): 2996-2999.

[110] Suh EK, Yang A, Kettenbach A, Bamberger C, Michaelis AH, Zhu Z, Elvin JA, Bronson RT, Crum CP, McKeon F. (2006), p63 protects the female germ line during meiotic arrest. Nature, 444 (7119): 624-628.

[111] Suzuki N, Yoshioka N, Takae S, Sugishita Y, Tamura M, Hashimoto S, Morimoto Y, Kawamura K: .(2015), Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. Hum Reprod, 30 (3): 608-615.

[112] Sztein J, Sweet H, Farley J, Mobraaten L. (1998), Cryopreservation and orthotopic transplantation of mouse ovaries: new approach in gamete banking. Biology of reproduction, 58 (4): 1071-1074.

[113] Tagler D, Makanji Y, Anderson NR, Woodruff TK, Shea LD. (2013), Supplemented αMEM/F12-based medium enables the survival and growth of primary ovarian follicles encapsulated in alginate hydrogels. Biotechnology and bioengineering, 110 (12): 3258-3268.

[114] Ting AY, Petroff BK. (2010), Tamoxifen decreases ovarian follicular loss from experimental toxicant DMBA and chemotherapy agents cyclophosphamide and doxorubicin in the rat. J Assist Reprod Genet, 27 (11): 591-597.

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

[116] Vanacker J, Luyckx V, Dolmans M-M, Des Rieux A, Jaeger J, Van Langendonckt A, Donnez J, Amorim CA. (2012), Transplantation of an alginate–matrigel matrix containing isolated ovarian cells: first step in developing a biodegradable scaffold to transplant isolated preantral follicles and ovarian cells. Biomaterials, 33 (26): 6079-6085.

[117] Verga Falzacappa C, Timperi E, Bucci B, Amendola D, Piergrossi P, D'Amico D, Santaguida MG, Centanni M, Misiti S. (2012), T(3) preserves ovarian granulosa cells from chemotherapy-induced apoptosis. The Journal of endocrinology, 215 (2): 281-289

[118] Waimey KE, Duncan FE, Su HI, Smith K, Wallach H, Jona K, Coutifaris C, Gracia CR, Shea LD, Brannigan RE. (2011), Future directions in oncofertility and fertility preservation: a report from the oncofertility consortium conference. Journal of adolescent and young adult oncology 2013, 2 (1): 25-30.

[119] Waterhouse T, Cox S-L, Snow M, Jenkin G, Shaw J. (2004), Offspring produced from heterotopic ovarian allografts in male and female recipient mice. Reproduction, 127 (6): 689-694.

[120] West ER, Shea LD, Woodruff TK. (2007), Engineering the follicle microenvironment. In: Seminars in reproductive medicine: 2007: Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.: 287-299.

[121] White YA, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL. (2012), Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. Nature medicine, 18 (3): 413-421.

[122] Woodruff TK. (2009), Preserving fertility during cancer treatment. Nature medicine, 15 (10): 1124-1125.

[123] Xu M, Barrett SL, West-Farrell E, Kondapalli LA, Kiesewetter SE, Shea LD, Woodruff TK. (2009), In vitro grown human ovarian follicles from cancer patients support oocyte growth. Human Reproduction, 24 (10): 2531-2540.

[124] Xu M, Fazleabas AT, Shikanov A, Jackson E, Barrett SL, Hirshfeld-Cytron J, Kiesewetter SE, Shea LD, Woodruff TK. (2011), In vitro oocyte maturation and preantral follicle culture from the luteal-phase baboon ovary produce mature oocytes. Biology of reproduction, 84 (4): 689-697.

[125] Xu M, Kreeger PK, Shea LD, Woodruff TK. (2006), Tissue-engineered follicles produce live, fertile offspring. Tissue engineering 12 (10): 2739-2746.

[126] Xu M, Pavone ME, Woodruff T. (2011), Fruitful progress to fertility: preserving oocytes from chemodestruction. Nature medicine, 17 (12): 1562-1563.

[127] Xu M, West-Farrell ER, Stouffer RL, Shea LD, Woodruff TK, Zelinski MB.

(2009), Encapsulated three-dimensional culture supports development of nonhuman primate secondary follicles. Biology of reproduction, 81 (3): 587-594.

[128] Zelinski MB, Murphy MK, Lawson MS, Jurisicova A, Pau KY, Toscano NP, Jacob DS, Fanton JK, Casper RF, Dertinger SD et al. (2011), In vivo delivery of FTY720 prevents radiation-induced ovarian failure and infertility in adult female nonhuman primates. Fertility and sterility, 95 (4): 1440-1445 e1441-1447.

[129] Zhang H, Panula S, Petropoulos S, Edsgard D, Busayavalasa K, Liu L, Li X, Risal S, Shen Y, Shao J et al. (2015) Adult human and mouse ovaries lack DDX4-expressing functional oogonial stem cells. Nature medicine, 21 (10): 1116-1118.