

## *Recent advances of the egg's freezing: An overview*

Faranak Aghaz<sup>1</sup>,  
Mozafar Khazaei<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PhD Student in Molecular Cell Biology, Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

<sup>2</sup> Professor, Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received November 6, 2017 ; Accepted February 12, 2018)

### **Abstract**

It is now more than three decades since the first live birth from oocyte cryopreservation. At present, oocyte cryopreservation has become a major component of Assisted Reproductive technologies (ART). Across the world, there is an increasing demand, especially for so-called 'social egg freezing' that allows women to preserve their fertility in anticipation of age-related fertility decline. The purpose of this review article was to investigate the current status of oocyte cryopreservation, common techniques, success rate, clinical applications, the rise of elective oocyte cryopreservation, and future implications. A systematic search was performed using Web of Science and PubMed databases for articles published between January 1980 and December 2015. Keywords used included 'egg freezing', 'oocyte freezing', 'oocyte cryopreservation', 'oocyte vitrification', and 'fertility preservation'. Recently, due to many reasons, including resolving age-related infertility in women the success rate of oocyte cryopreservation by vitrification has risen and IVF pregnancy rates are now similar to those achieved by fresh oocytes, therefore a remarkable increase is seen in oocyte cryopreservation cycles around the world. Oocyte cryopreservation (vitrification), especially social egg freezing is one of the best choices in women and girls with cancer who are at risk of losing fertility due to chemotherapy and radiation therapy, reproductive problems, premature ovaries, and also in women with chronic illnesses.

**Keywords:** Oocyte, Cryopreservation, Vitrification, Fertility Preservation

**J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (164): 192-213 (Persian).**

\* **Corresponding Author: Mozafar Khazaei** - Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran (E-mail: mkhazaei1345@yahoo.com)

## پیشرفت های اخیر در انجماد تخمک: یک مطالعه مروری

فرانک آغاز<sup>۱</sup>

مظفر خزاعی<sup>۲</sup>

### چکیده

بیش از سه دهه از اولین تولد حاصل از لقاح تخمک منجمد شده می گذرد. در حال حاضر انجماد تخمک یک تکنیک تکمیلی مهم در مراکز ناباروری محسوب می شود. در سراسر جهان تقاضا برای انجماد تخمک، به ویژه انجماد تخمک اجتماعی "Social egg freezing" برای حفظ باروری در محدوده خارج از سن باروری، افزایش یافته است. بنابراین هدف از انجام این مقاله مروری، بررسی وضعیت اخیر انجماد تخمک، تکنیک های رایج، میزان موفقیت، کاربردهای بالینی، معرفی انجماد تخمک انتخابی و پیامدهای آینده آن است. یک جستجوی سیستماتیک در نشریات علمی Web of Science و PubMed از ژانویه سال ۱۹۸۰ تا دسامبر ۲۰۱۶ انجام شد. کلمات کلیدی مورد استفاده در این جستجوی منظم شامل 'egg freezing'، 'oocyte freezing'، 'oocyte cryopreservation'، 'oocyte vitrification'، 'fertility preservation' بود. اخیراً در سراسر جهان و به دلایل متنوع از جمله حذف ناباروری وابسته به سن در زنان، افزایش میزان موفقیت نسبی حاصل از انجماد تخمک با استفاده از روش انجماد شیشه ای و یکسان بودن نرخ بارداری حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک منجمد شده و تازه، تقاضا برای انجماد تخمک در اکثر مراکز ناباروری افزایش قابل توجهی یافته است. یکی از بهترین گزینه ها، برای حفظ باروری در زنان و دختران مبتلا به سرطان که در معرض خطر از دست دادن باروری به دلایل شیمی درمانی و اشعه درمانی، مشکلات تولید مثلی، تخمدان های نارس و هم چنین زنانی که به بیماری های مزمن مبتلا هستند، انجماد تخمک به روش شیشه ای، به ویژه «انجماد تخمک اجتماعی» است.

واژه های کلیدی: تخمک، انجماد، انجماد شیشه ای، حفظ باروری

### مقدمه

باروری دارند اما به هر دلیلی نمی توانند یا نمی خواهند بچه دار شوند و نگران آن هستند که در آینده، هنگامی که شرایط مناسب برایشان فراهم شد، قدرت باروری شان را از دست میدهند یا نه. با توجه به پیشرفت های شگرفی که در علم کرایوبیولوژی صورت گرفته، بشر توانسته از روش های متنوع آن در نگهداری گامت ها و جنین در جهت حفظ باروری بهره بگیرد. اگر چه در مراکز

در سالیان اخیر، حفظ باروری زنان به خصوص در مواردی که بافت های تولید مثلی و قدرت باروری فرد در معرض خطر قرار می گیرد، از اهمیت زیادی برخوردار است. به همین دلیل بیماران سرطانی پیش از آن که در طی مراحل شیمی درمانی و پرتودرمانی لگنی دچار نازایی یا کاهش قدرت باروری شوند، جوانانی که هنوز ازدواج نکرده اند و فرزندی ندارند و تمامی افرادی که قدرت

E-mail: mkhazaei1345@yahoo.com

مؤلف مسئول: مظفر خزاعی - کرمانشاه: دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری

۱. دانشجوی دکتری سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲. استاد، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۸/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۱۱/۲۳

پیشرفته و میزان موفقیت پایین، باعث ایجاد یکسری نگرانی‌ها در این رشته شد. مقالات اولیه، دلیل اصلی موفقیت پایین انجماد تخمک را، ویژگی‌های نفوذپذیری غشاء تخمک انسان همراه با دیگر پارامترهای بیوفیزیکی و همچنین اثرات منفی انجماد بر ثبات میکروتوبول و میکروفیلانمنت‌ها در تخمک پستانداران (که برای تفکیک کروموزومی طبیعی حیاتی‌اند) بیان کردند (۴). سخت بودن ناحیه شفاف تخمک (zona pellucida) و نرخ لقاح آزمایشگاهی پایین پس از ذوب، از دیگر مشکلات مرتبط با انجماد تخمک بود. بعد از پیشرفت‌های چشمگیر در این زمینه، متون علمی پیشنهاد دادند که تخمک انسان به‌طور بالقوه پتانسیل حفظ مورفولوژی و یکپارچگی کروموزومی بعد از انجماد را دارد. با این حال، هنوز پروتکل ثابت برای انجماد تخمک وجود ندارد. تحقیقات در زمینه انجماد تخمک به دلیل وجود محدودیت‌های قانونی پیرامون ذخیره‌سازی جنین، به ویژه در زمان تشدید مخالفت با انجماد جنین در ایتالیا (۴) شتاب گرفت. با معرفی تکنیک انجماد شیشه‌ای به عنوان یک جایگزین مناسب برای انجماد آهسته، آسیب وارد شده به ساختار داخلی تخمک در طی پروسه انجماد کاهش یافت. این امر منجر به افزایش میزان موفقیت حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک منجمد ذوب شد. علاوه بر این، معرفی تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI: Intracytoplasmic sperm injection) باعث برطرف شدن مشکلات لقاح به دلیل سختی ناحیه شفاف شد (۵). در پی این نتایج امیدوار کننده، در سال ۲۰۰۰، سازمان لقاح و جنین‌شناسی انسانی (HFEA: Human Fertilisation and Embryology Authority) در انگلستان، اجازه استفاده از تخمک منجمد برای درمان ناباروری را صادر کرد (۶). سپس در سال ۲۰۱۱، انجمن آمریکایی پزشکی تولید مثل (ASRM: American Society for Reproductive Medicine) در پی چهار کارآزمایی بالینی تصادفی (RCT) Randomized controlled trials ثابت کرد که نرخ

مراکز ناباروری، تکنیک انجماد جنین و اسپرم به خوبی تثبیت شده است، اما هنوز پروتکل ثابت برای انجماد تخمک وجود ندارد. با این حال، انجماد تخمک به‌طور قابل توجهی نگرانی‌های اخلاقی، قانونی و شرعی مربوط به انجماد جنین را برطرف می‌کند، به همین دلیل این روش در بسیاری از جوامع به انجماد جنین ترجیح داده می‌شود (۱). از زمان تولد نخستین فرزند حاصل از تخمک منجمد در استرالیا در سال ۱۹۸۶ (۲)، پیشرفت‌های بسیاری در این زمینه صورت گرفته است. در حال حاضر، روش‌های انجماد تخمک، بهبود یافته و میزان موفقیت حاصل از این تکنیک به عنوان گزینه مناسب برای درمان بیماران با علائم متنوع پزشکی و اجتماعی، به ویژه برای حذف ناباروری وابسته به سن، استفاده می‌شود.

## مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری به بررسی وضعیت اخیر انجماد تخمک، تاریخچه آن، تکنیک‌های رایج، کاربردهای کلینیکی و فواید بهره‌گیری از آن پرداخته شده است. یک جستجوی سیستماتیک در نشریات علمی Web of Science و PubMed از ژانویه سال ۱۹۸۰ تا دسامبر ۲۰۱۶ انجام شد. کلمات کلیدی مورد استفاده در این جستجوی شامل oocyte cryopreservation, oocyte freezing, egg freezing, fertility preservation, oocyte vitrification بود. پس از بازیابی عناوین مرتبط، خلاصه مقالات منتخب توسط تیم تحقیق بررسی و سپس مقالات نهایی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند.

### تاریخچه انجماد تخمک

اولین بارداری موفق در پی انجماد تخمک با استفاده از تکنیک‌های انجماد آهسته و سریع، در اواخر دهه ۱۹۸۰ به دست آمد (۳). در سال‌های اولیه معرفی انجماد تخمک، برخی ویژگی‌های تخمک از جمله نسبت پایین سطح به حجم و حساسیت بالا به شکل‌گیری کریستال‌های یخ داخل سلولی و همچنین عدم وجود تکنیک‌های

لقاح و بارداری حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک منجمد شده به وسیله انجماد شیشه ای و تخمک تازه بسیار مشابه است (۷). این گزارشات مقدمه ای برای استفاده از انجماد تخمک در مراکز ناباروری سراسر جهان شد.

#### مواد محافظ سرما

انجماد شامل حفظ سلول و بافت برای مدت زمان طولانی در دمایی زیر صفر درجه سانتی گراد است. مواد محافظ سرما (Cryoprotectant) ترکیباتی هستند که با جلوگیری از تشکیل یخ باعث کاهش تخریب های انجماد می شوند. این ترکیبات را می توان بر اساس توانایی آن ها در عبور از غشای سلول به دو گروه نفوذپذیر و نفوذناپذیر تقسیم بندی کرد. مواد محافظ سرما نفوذپذیر شامل [دی متیل سولفو کساید (DMSO)، گلیسرول، اتیلن گلیکول (EG)، ۱، ۲ پروپانیدیول (PROH)] و مواد محافظ سرما نفوذناپذیر مثل ساکارز، گلوکز، فروکتوز و ترهالوز می باشند. مواد محافظ سرما متنوعی از جمله دی متیل سولفو کسید، اتیلن گلیکول و ساکارز در پروتکل انجماد تخمک مورد استفاده قرار می گیرند (۸) که در دهه اخیر از میان این مواد، اتیلن گلیکول، به دلیل نفوذپذیری بالا و سمیت متوسط، به عنوان یک ماده محافظ سرمای استاندارد برای انجماد تخمک کاربرد فراوانی داشته است (۹). اما بر اساس نتایج مطالعات اخیر، مخلوط حاوی نسبت مساوی از دی متیل سولفو کسید و اتیلن گلیکول، بیشترین اثربخشی را به عنوان یک مخلوط محافظ سرمای مناسب در پروتکل های انجماد تخمک انسان نشان می دهد. زیرا دی متیل سولفو کسید باعث افزایش نفوذپذیری اتیلن گلیکول می شود (۱۰). به همین دلیل امروزه این مخلوط، پر کاربردترین ماده محافظ سرما، برای انجماد تخمک، در مراکز ناباروری می باشد.

#### تکنیک های انجماد تخمک

تاکنون دو تکنیک اساسی، تکنیک انجماد آهسته (slow-freezing) یا پروتکل اولیه انجماد تخمک و

تکنیک انجماد شیشه ای (vitrification)، برای تخمک انسان معرفی شده است. در طی فرایند انجماد آهسته، سلول ها در معرض غلظت کمی از مواد محافظ سرما قرار می گیرند و کاهش دمای به آهستگی رخ می دهد. در این روش تخمک ابتدا تا دمای ۵- یا ۷- درجه سانتی گراد خنک می شود که در این مرحله تعادل سازی و تشکیل کریستال یخ رخ می دهد. سپس به آرامی و با سرعت ۰/۳ تا ۰/۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه سرد می شود، تا زمانی که به دمای ۳۰- تا ۶۰- درجه سانتی گراد برسد. پس از آن با سرعت ۱۰- درجه سانتی گراد در دقیقه در دمای ۱۵۰- سردتر شده و در نهایت در نیتروژن مایع ۱۹۶- ذخیره می شوند. امروزه در مراکز ناباروری متعدد از پروتکل های متفاوتی برای تکنیک انجماد آهسته تخمک استفاده می شود که یکی از معتبرترین آن ها پروتکل Fabbri و همکاران می باشد (۱۱). در این روش، تخمک ها به مدت ۱۰ دقیقه در محیط انجمادی مکمل شده با ۳۰ درصد سرم و ۱/۵ مولار ۱،۲- پروپانیدیول قرار گرفته و سپس به قطرات بعدی محیط انجمادی حاوی ۳۰ درصد سرم، ۱/۵ مولار ۱،۲- پروپانیدیل و ۰/۳ مولار ساکاروز منتقل می شوند. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، روی هر نی انجمادی، دو تا سه تخمک قرار می گیرد و پس از سیلد شدن آن ها، وارد پروسه انجماد آهسته می شود. بدین صورت که تخمک ابتدا تا دمای ۵- یا ۷- درجه سانتی گراد، با سرعت ۲- درجه سانتی گراد در دقیقه خنک می شوند و پس از قرار گرفتن نی های انجمادی به مدت ۱۰ دقیقه در دما ۷- درجه سانتی گراد، خنک سازی با سرعت ۰/۳ درجه سانتی گراد بر دقیقه تا دمای ۳۳- درجه سانتی گراد ادامه می یابد. در نهایت تخمک ها به ازت مایع منتقل شده و برای چندین سال در دمای ۱۹۶- درجه سانتی گراد قابل نگهداری می باشند. یخ گشایی نیز با قرار دادن نی های انجمادی حاوی تخمک های منجمد شده در دمای اتاق به مدت ۴۰ ثانیه و سپس غوطه ور نمودن آن ها در دمای ۳۱ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه انجام می شود. سپس

تخمک‌ها به صورت متوالی به شش قطره متوسط محیط کشت مکمل شده با غلظت نزولی ۱،۲- پروپانیديول و ساکاروز (۵ دقیقه در هر قطره) برای حذف این مواد محافظ سرما، شستشو داده می‌شوند. به گونه‌ای که قطره ششم حاوی محیط کشت به تنهایی می‌باشد. در نهایت تخمک‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۲ تا ۳ ساعت کشت قبل از ICSI قرار داده می‌شود. اگرچه تغییرات متعددی روی پروتکل‌های اولیه انجماد آهسته انجام گرفت تا به میزان موفقیت بالاتری منجر شود، اما هنوز هم نگرانی‌های در استفاده بالینی از این روش وجود دارد. بر اساس مطالعات، میزان موفقیت حاصل از لقاح تخمک منجمد شده به روش انجماد آهسته به طور معنی‌داری کم‌تر از تخمک تازه است (۸). انجماد شیشه‌ای به معنای انجماد سریع یک محلول در دمای بسیار پایین (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) و بدون ایجاد هیچ‌گونه کریستال یخ درون سلولی است. در تکنیک انجماد شیشه‌ای، سلول‌ها در معرض غلظت بالای از مواد محافظ سرما قرار می‌گیرند. بنابراین خطر تشکیل کریستال‌های یخ درون سلولی در این تکنیک به حداقل می‌رسد (۱۲). در انجماد شیشه‌ای تخمک، اتیلن گلیکول به دلیل سمیت پایین و قدرت عبور بالا از ناحیه شفاف و غشای سلولی تخمک، بیش‌تر از همه به عنوان ماده محافظ سرما استفاده می‌شود. بر خلاف تکنیک انجماد آهسته، نرخ خنک‌سازی در این تکنیک ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، قبل از غوطه‌ور شدن در نیتروژن مایع می‌باشد. اگر چه در مراکز ناباروری، تکنیک انجماد شیشه‌ای تخمک به وسیله کیت‌های انجماد شیشه‌ای و بر اساس دستورالعمل‌های شرکت‌های سازنده انجام می‌گیرد، اما پایه و اساس انجماد شیشه‌ای به طور خلاصه در این بخش ذکر می‌شود. در تکنیک انجماد شیشه‌ای، تخمک‌ها پس از قرارگیری در محیط تعادل حاوی ۷/۵ درصد اتیلن گلیکول و ۷/۵ درصد پروپانیديول به مدت ۵ دقیقه، به محیط انجمادی حاوی ۱۵ درصد اتیلن گلیکول و ۱۵ درصد پروپانیديول و

مولار ساکارز برای ۴۵ تا ۶۰ ثانیه منتقل می‌شوند (۱۳). سپس تخمک‌ها روی کرایوتاپ قرار گرفته و بلافاصله به نیتروژن مایع منتقل می‌شوند. برای انجام یخ‌گشایی، بر اساس دستورالعمل‌های کیت، کرایوتاپ حاوی تخمک منجمد شده پس از قرارگیری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱ دقیقه، به طور مستقیم به محیط یخ‌گشایی حاوی ۱ مولار ساکارز، محیط‌های رقیق‌کننده حاوی ۰/۵ مولار ساکاروز، محیط رقیق‌کننده حاوی ۰/۲۵ مولار ساکارز و سپس محیط شستشو منتقل می‌شود. در نهایت پس از انکوبه شدن تخمک‌های فریز-ذوب به مدت ۲ تا ۳ ساعت، میزان زنده‌مانی تخمک‌ها بر اساس مورفولوژی کامل بودن غشای تخمک مورد بررسی قرار می‌گیرد. روش انجماد شیشه‌ای به سرعت به عنوان یک روش مهم جهت جایگزینی روش‌های سنتی انجماد مورد توجه قرار گرفت. این روش امروزه در مراکز ناباروری برای انجماد جنین، تخمک و بافت قشری تخمدان بیش‌تر مورد توجه است زیرا روش انجماد شیشه‌ای به سلول‌ها یا بافت انجمادی آسیب کم‌تری وارد کرده و تأثیرات مخرب کم‌تری بر بقا و توانایی تکوین این سلول‌ها دارد. دو سیستم اصلی برای انجام تکنیک انجماد شیشه‌ای وجود دارد: انجماد شیشه‌ای باز و بسته. تکنیک انجماد شیشه‌ای باز شامل تماس مستقیم بین تخمک و نیتروژن مایع، با استفاده از دستگاه‌های حامل باز مانند لوله‌های موئینه (capillary glasses)، دستگاه کوپر (cooper device)، استراوهای کشیده (pulled straws)، کرایوتاپ (Cryotop) و لوپ‌ها (loops) می‌باشد تا حجم محلول انجمادی کاهش یافته و تشکیل کریستال یخ به صورت چشمگیری کاهش یابد (۸). با این حال اگر نیتروژن مایع به‌طور تصادفی آلوده شود این سیستم‌ها نمی‌توانند خطر آلودگی با میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهند. در مقابل در تکنیک انجماد شیشه‌ای بسته (Straw-in-Straw)، سیستم‌های حامل بسته شامل کرایوتیپ (Cryotip) و کرایوپیت (Cryopette) وجود دارد که با طراحی خاص

خود از تماس مستقیم سلول و بافت با نیتروژن مایع جلوگیری می‌کند. این سیستم‌ها می‌توانند خطر آلودگی با میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهند، اما سبب کاهش سرعت سرد شدن می‌شود (۱۴). کرایوتیپ یک لوله موئینی بسیار باریک است که می‌تواند پس از قرارگیری حداقل محلول حاوی تخمک مهر و موم شود؛ بر این اساس، هیچ‌گونه تماس مستقیم بین تخمک با نیتروژن مایع وجود ندارد. این روش برای انجماد جنین‌های انسان به‌طور موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است، اما میزان توسعه اولیه جنینی در تخمک منجمد شده با این روش در مقایسه با روش کرایوتاپ کاهش می‌یابد (۱۵). یکی دیگر از مزایای روش کرایوتاپ، امکان جداسازی فازهای خنک‌کننده و ذخیره است. به عبارت دیگر در روش کرایوتاپ می‌توان مرحله خنک‌کنندگی را در حجم کمی از نیتروژن مایع استریل انجام داد و پس از سیلد کردن انتهای کرایوتاپ، آن را در تانک ازت نگهداری کرد. به همین دلیل مطالعات بیش‌تری برای اثبات برتری تکنیک‌های مذکور برای انجماد تخمک مورد نیاز است.

#### مقایسه تکنیک انجماد آهسته و شیشه‌ای

در تکنیک انجماد آهسته یا پروتکل اولیه انجماد تخمک، تغییر حالت مایع به جامد به آرامی و با کاهش دمای کنترل شده صورت می‌گیرد، در حالی که در تکنیک انجماد شیشه‌ای، کاهش دما سریع و سیتوپلاسم سلول از حالت مایع به شکل جامد بی‌نظم غیر کریستالی در می‌آید. با وجود این که در انجماد آهسته و شیشه‌ای از مواد محافظ سرما مشابه استفاده می‌شود، اما در غلظت این مواد محافظ سرما تفاوت زیادی وجود دارد. به گونه‌ای که، برای انجماد آهسته، غلظت مواد محافظ سرما به ۱ تا ۲ مول محدود می‌شود؛ اما در انجماد شیشه‌ای این مقدار تا ۵ مول نیز افزایش می‌یابد. انجماد آهسته، یک روش زمان‌بر است و نیازمند تجهیزات گران قیمت می‌باشد، در حالی که انجماد شیشه‌ای، یک

تکنیک سریع و مقرون به صرفه است که در مقایسه با انجماد آهسته، نیاز به وسایل گران قیمت ندارد، اما هنوز مشکلاتی مثل سمیت مواد محافظ سرما و خطر آلودگی‌ها باقی است (۱۶). هرچند اکثر مطالعات نشان می‌دهد که میزان بقای تخمک‌های منجمد شده به روش انجماد شیشه‌ای نسبت به تخمک‌هایی که پروتکل‌های انجماد آهسته را تجربه کرده‌اند بیش‌تر است، اما مطالعات محدودی در مورد مقایسه هر دو روش به‌طور مستقیم (۱۷، ۵) وجود دارد. بر اساس جستجوی منابع علمی، تنها یک مطالعه کلینیکی میزان بارداری حاصل از لقاح تخمک منجمد شده به روش انجماد آهسته را با انجماد شیشه‌ای مقایسه کرده است. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، انجماد شیشه‌ای باعث افزایش زنده ماندنی تخمک (۸۱ درصد در مقابل ۶۷ درصد) و میزان لقاح (۷۷ درصد در مقابل ۶۷ درصد) در مقایسه با انجماد آهسته می‌شود (۵). به‌طور مشابه، مطالعه دیگری نشان داد که میزان بقا، تسهیم و توسعه بلاستوسیت در لقاح تخمک منجمد شده به روش انجماد شیشه‌ای بهبود می‌یابد، اما میزان بارداری، به‌عنوان پیامد حاصل از انتقال این جنین‌ها را، ارزیابی نمی‌کند (۱۸). با این وجود، امروزه برخی از کلینیک‌ها میزان موفقیت در لقاح تخمک منجمد شده به هر دو روش انجماد شیشه‌ای و آهسته را یکسان گزارش می‌کنند (۱۹)، بنابراین این احتمال وجود دارد استفاده از پروتکل‌های مختلف، دلیل اصلی اختلاف در میزان موفقیت‌های گزارش شده در کلینیک‌های مختلف است. براساس مطالعات، انجماد تخمک به روش شیشه‌ای برخلاف انجماد آهسته، منجر به بهبود میزان زنده ماندن تخمک پس از یخ‌گشایی، لقاح، رشد و توسعه اولیه جنینی می‌شود. زیرا روش انجماد آهسته در مقایسه با انجماد شیشه‌ای، باعث آزاد شدن گرانول‌های قشری، شکستن کروموزوم‌ها و در نهایت سفتی ناحیه شفاف و کاهش باروری تخمک می‌شود (۲۰). بنابراین تکنیک انجماد شیشه‌ای برای تخمک، برتر از روش انجماد آهسته است.

مقایسه انجماد شیشه ای بسته و باز

مطالعات کارآزمایی بالینی تصادفی (RCT)، نرخ موفقیت مشابهی بین لقاح آزمایشگاهی تخمک منجمد شده با تکنیک انجماد شیشه ای باز و تخمک تازه گزارش کردند (۲۱). هم چنین نگرانی هایی با توجه به پتانسیل آلودگی متقاطع بین تخمک و نیتروژن مایع در مورد سیستم انجماد شیشه ای باز مطرح شده است. برای جلوگیری از خطر بالقوه آلودگی با میکروارگانیسم ها، استریلیزاسیون نیتروژن مایع با استفاده از نور ماوراء بنفش و یا ذخیره سازی تخمک در بخار نیتروژن مایع، با چگالی کم تر از آلاینده های هوای محیط پیرامون و ظروف ذخیره سازی قبل از روند انجماد شیشه ای، توصیه می گردد (۲۲). پژوهشگران به عنوان یک راه حل قوی تر برای از بین بردن نگرانی آلودگی ها، روش انجماد شیشه ای بسته را ارائه کردند (۲۳). سپس با قرار دادن وسایل مورد استفاده در هر دو روش باز و بسته در معرض نیتروژن مایع آلوده، دریافتند که وسایل مورد استفاده در روش بسته عاری از آلودگی باکتریایی بود، در حالی که در ۴۵ درصد از وسایل مورد استفاده در سیستم باز، آلودگی باکتریایی وجود داشت. با این وجود، در سال ۲۰۱۱، نگرانی های جدیدی در مورد اثربخشی انجماد شیشه ای با سیستم بسته مطرح شد. بر اساس مطالعه Bonetti و همکاران (۲۴) در استفاده از روش انجماد شیشه ای بسته، حفظ فراساختار تخمک به خوبی سیستم های باز نیست. هم چنین نتایج مطالعه دیگری نشان داد که نرخ لقاح، تسهیم و میزان بارداری کلینیکی در انجماد شیشه ای بسته کاهش می یابد (۲۵). در مقابل، مطالعات دیگر ثابت کردند که روش انجماد شیشه ای بسته می تواند علاوه بر جلوگیری از انتقال آلودگی، به نتایج کلینیکی بسیار عالی تری نسبت به سیستم انجماد شیشه ای باز دست یابد (۲۶). هم چنین نتایج حاصل از یک مطالعه مقطعی در بریتانیا (۲۰۱۱) نشان داد که ۷۵ درصد از مراکز ناباروری از روش انجماد شیشه ای بسته استفاده می کنند (۲۷). هر چند مطالعات دیگر اعلام کردند که برتری پروتکل های

انجماد شیشه ای به میزان زیادی، به نرخ گرم شدن تخمک بستگی دارد (۲۹،۲۸). بر این اساس، تاثیر نرخ گرم شدن تخمک بر زنده مانی تخمک، در حقیقت پر اهمیت تر از نرخ خنک سازی است و نتایج مطلوب به احتمال زیاد، زمانی به دست می آید که انجماد شیشه ای و گرم شدن تخمک در یک کلینیک و با پروتکل یکسان انجام گیرد.

پیشرفت های اخیر در انجماد شیشه ای تخمک

اگرچه در حال حاضر هر دو روش انجماد شیشه ای و آهسته در بسیاری از مراکز ناباروری انجام می شود، اما مطالعات اخیر نشان می دهد که روش انجماد شیشه ای، به طور قابل توجهی میزان بقای تخمک و حاملگی بعد از انتقال جنین را بهبود می بخشد. در سال ۲۰۰۶، یک متآنالیز پیشنهاد کرد که میزان بارداری حاصل از تخمک منجمد شده به وسیله روش انجماد شیشه ای بهبود می یابد، هر چند هنوز تعداد بارداری کمی گزارش شده است (۱۷). به طور مشابه، مقایسه نتایج لقاح آزمایشگاهی از تخمک منجمد شده با استفاده از تکنیک انجماد آهسته و انجماد شیشه ای نشان داد که انجماد شیشه ای منجر به نرخ بهتر زنده مانی، لقاح و بارداری می شود اگرچه تنها افزایش میزان بارداری به طور معنی دار گزارش شده است (۱۸/۲ درصد در مقابل ۷/۶ درصد) (۳۰،۵). نتایج مطالعات موجود در مورد پیامدهای لقاح آزمایشگاهی تخمک منجمد شده با روش انجماد شیشه ای پیشنهاد می کند که میزان موفقیت حاصل از لقاح آزمایشگاهی هر دو تخمک تازه و منجمد شده با روش انجماد شیشه ای یکسان است و نرخ زنده مانی تخمک منجمد شده با روش انجماد شیشه ای بیش از ۸۴ درصد می باشد (۳۱). اگرچه در سال ۱۹۹۹، نزدیک به ۱۰۰ تخمک منجمد برای رسیدن به یک بارداری موفق نیاز بود (۳۲)، اما در حال حاضر تنها با ۲۰ تخمک منجمد شده با روش انجماد شیشه ای می توان بارداری موفق داشت، هر چند میزان بارداری به شدت وابسته به سن تخمک

است (۳۳). در سال ۲۰۱۱، آزمایشات کنترل شده تصادفی، میزان بارداری کلینیکی را به ازای هر بار انتقال جنین بین ۳۵/۵ درصد و ۶۵/۲ درصد گزارش کردند (۲۱). یافته‌های متاآنالیز اخیر روی پنج مطالعه نشان داد که نرخ لقاح، تسهیم، کیفیت بالای جنین و بارداری حاصل از تخمک تازه و منجمد شده با روش انجماد شیشه‌ای متفاوت نیست (۱۳). بنابراین در انسان، اکثر مطالعات نشان می‌دهد که میزان بقای پس از زایمان در نوزادان حاصل از لقاح تخمک‌های منجمد شده به روش انجماد شیشه‌ای نسبت به انجماد آهسته (۳۴،۲۶۸) بالاتر است. علاوه بر این، در یک مطالعه گزارش شده است که بهبودی دوک‌های تقسیم میوزی در تخمک‌های که به روش انجماد شیشه‌ای منجمد شده‌اند، سریع‌تر از روش انجماد آهسته (۱) است. بر این اساس در حال حاضر در بسیاری از مراکز ناباروری، روش انجماد شیشه‌ای به عنوان اصلی‌ترین تکنیک برای انجماد تخمک کاربرد دارد و موسسه ملی بهداشت و مراقبت عالی (National Institute for Health and Care) در ۲۰۱۳ گزارش کرد که «اگر تجهیزات و تخصص ضروری در دسترس است، در انجماد تخمک و جنین، روش انجماد شیشه‌ای جایگزین انجماد آهسته شود» (۱۳).

#### نتایج انجماد تخمک

مطالعات زیادی، پیامدهای طولانی مدت زایمان و قبل و بعد از تولد فرزند حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک منجمد شده با انجماد شیشه‌ای را مورد بررسی قرار داده‌اند. تجزیه و تحلیل ۱۶۵ بارداری و ۲۰۰ نوزاد متولد شده نشان داد که متوسط وزن هنگام تولد و بروز ناهنجاری‌های مادرزادی، در نوزادان متولد شد حاصل از لقاح تخمک تازه یا منجمد شده با روش انجماد شیشه‌ای مشابه است (۳۵). براساس نتایج مقاله مروری دیگر بر روی ۹۳۶ نوزاد متولد شده، میزان ناهنجاری‌های ژنتیکی حاصل از لقاح تخمک منجمد شده با روش انجماد شیشه‌ای و آهسته یکسان گزارش شد (۳۶). به طور مشابه Cobo و

همکاران (۳۷) گزارش کردند که روش انجماد شیشه‌ای، عوارض جانبی زایمان و پس از تولد را افزایش نمی‌دهد. در مقابل بر اساس نتایج Kushnir و همکاران (۳۸)، نرخ تولد زنده به ازای هر چرخه اهدای تخمک منجمد شده در مقایسه با تخمک تازه، به طور قابل توجهی پایین‌تر است (۴۰/۳ درصد در مقابل ۴۹/۶ درصد). هرچند در این مطالعه عوامل مهم مخدوشگر مثل سن گیرنده و اهدا کننده یا پروتکل‌های انجماد بررسی نشده بود. بنابراین با وجود اطمینان از اثرات سود بخشی و ایمن بودن انجماد تخمک، افزایش پژوهش‌ها در مورد پیامدهای طولانی مدت انجماد تخمک در سراسر جهان ضروری است.

#### کاربردهای کلینیکی انجماد تخمک

اگر چه تکنیک انجماد تخمک در ابتدا برای زنان با علایم پزشکی و بدون هیچ گزینه درمانی برای باروری (۳۹) اجرا شد، اما در حال حاضر انجماد تخمک نقش مهمی در درمان بیماران با شرایط مختلف ناباروری ایفا می‌کند. شاید قابل توجه‌ترین تعریف از انجماد تخمک، انجماد تخمک اجتماعی است که به عنوان وسیله‌ای برای حفظ باروری و حذف ناباروری وابسته به سن در زنان مطرح می‌باشد (۴۰). کاربردهای دیگر انجماد تخمک شامل برنامه‌های اهدا و ذخیره‌سازی تخمک است. بر اساس گزارش HFEA تا سال ۲۰۱۲، حدود ۱۸۰۰۰ تخمک برای استفاده بعدی خود بیمار منجمد شد که تنها ۱۶۰ چرخه ذوب/گرم شدن انجام و در نهایت ۲۰ تولد زنده ثبت شد. به طور معمول تخمک برای ۱۰ سال منجمد و ذخیره می‌شود، اما تاکنون گزارشات اندکی درباره این که زنی بتواند پس از چند سال از تخمک منجمد خود استفاده کند وجود دارد و به همین دلیل از این روش بیش‌تر برای درمان نازایی زنان دیگر استفاده می‌شد. از این رو تعداد زیادی از مراکز ناباروری در سراسر جهان "انجماد تخمک اجتماعی" را پیشنهاد می‌دهند.

## انجماد تخمک در مقایسه با انجماد جنین

امروزه، انجماد جنین به عنوان یک تکنیک مهم کمک باروری، مزیت های بسیاری دارد. توانایی ذخیره جنین های مازاد ایجاد شده در طی روش های درمان ناباروری، می تواند به کاهش تعداد جنین ها در چرخه انتقال جنین تازه و در نتیجه به حداقل رساندن خطر بارداری های چندقلویی، کاهش نیاز به تکرار چرخه تحریک تخمدان و افزایش میزان باروری اجتماعی منجر شود. با این وجود، به دلیل اعتراضات مذهبی، محدودیت های اخلاقی شخصی و قانونی در برخی کشورها، انجماد جنین یک گزینه مناسب برای تمام زوج ها نیست. تصمیم گیری در مورد سرنوشت جنین ذخیره شده نیز می تواند به اختلافات حقوقی به ویژه در صورت طلاق یا جدایی، منجر شود (۱). بنابراین اهداء تخمک منجمد شده می تواند یک جایگزین مناسب برای انجماد جنین در بسیاری از زوج های تحت درمان فرآیند لقاح آزمایشگاهی باشد و بدون شک کمک موثری برای تکنولوژی های تولید مثل است. از آنجا که در اهداء تخمک بر خلاف اهداء جنین، مواد ژنتیکی فرزند حاصل سرچشمه از یک والد (پدر) دارد و حداقل ۵۰ درصد ژن فرزندی که حاصل می شود، متعلق به همان خانواده است، حساسیت اخلاقی و حواشی کمتری در ذخیره سازی و انجماد آن به وجود می آید (۷). هم چنین افزایش چشمگیر تقاضا برای انجماد تخمک در سال های اخیر، حاکی از ارجحیت انجماد تخمک نسبت به جنین است (۴۱).

تخمک بالغ یکی از بزرگ ترین سلول های بدن به اندازه تقریبی ۱۳۰ میکرومتر است و نسبت پایین سطح به حجم تخمک سبب کارآیی کم تر تبادل آب و مواد محافظ سرما می شود و نتیجه اجتناب ناپذیر این است که تخمک در مقایسه با جنین، بیش تر مستعد نگهداری آب و در نتیجه تخریب به دلیل ایجاد کریستال های یخ در زمان انجماد است. به همین دلیل بر خلاف جنین، انجماد تخمک بالغ سخت است و موفقیت در انجماد تخمک با توجه به شرایط خاص سلول و حساسیت بیش از حد

آن نسبت به تخریب های حاصل از ایجاد کریستال های یخ در زمان انجماد، پایین بوده است (۱۷). اما اخیراً پیشرفت های قابل ملاحظه ای در بهبود تکنیک های انجماد تخمک صورت گرفته و نتیجه آن حاملگی و تولد زنده بوده است. هم چنین ضرورت انجماد تخمک به دلایلی مانند سندرم تحریک بیش از حد تخمدانی (هیپر استیمولاسیون تخمدان)، ابتلاء فرد به سرطان به خصوص در سنین جوانی، نبود موفقیت مرحله اول انتقال جنین در رحم و تقاضای والدین برای فرزند دیگر در سال های آتی بر کسی پوشیده نیست و کم و بیش نیاز آن احساس می شود (۸). به علاوه نتایج نشان داده است که غشای تخمک های بالغ دارای یک ترکیب لیپیدی متفاوت در مقایسه با تخمک های نابالغ بوده و نسبت به کاهش درجه حرارت و آسیب های ناشی از سرما دارای مقاومت کمتری هستند. بنابراین با انجماد تخمک های نابالغ می توان بر این مشکلات غلبه نمود (۴۲). بر اساس مطالب مذکور، انجماد تخمک و جنین دو تکنیک اساسی و پر اهمیت برای درمان ناباروری با دلایل متنوع می باشد.

## روش های انجمادی و پیشرفت های اخیر در تکنیک انجماد جنین

تمام روش های انجمادی در انجماد جنین، همانند آن چه که در انجماد تخمک گفته شد، به دو روش انجماد آهسته و شیشه ای تقسیم می شود که پایه و اساس این روش ها دقیقاً همانند آن چه است که در مورد انجماد تخمک در بخش های بالا ذکر گردید، با این تفاوت که در روش انجماد آهسته جنین، معمولاً مواد محافظ سرما نفوذپذیر (مثل گلیسرول، اتیلن گلیکول، ۱ و ۲ پروپان دیول) با غلظتی در حدود ۱/۵ مول استفاده می شوند، در حالی که در تکنیک انجماد آهسته تخمک، می توان از مواد محافظ سرما نفوذپذیر یا نفوذناپذیر استفاده کرد. بنابراین، لازم است سرعت انجماد به گونه ای تنظیم شود که فرصت لازم برای خروج آب از سلول در اختیار آن قرار گیرد. این روش، برای اولین بار به وسیله

Trounson و همکارانش در سال ۱۹۸۴ مطرح شد. آنان، اولین تولد زنده حاصل از انتقال جنین انسان منجمد شده به روش انجماد آهسته گزارش کردند (۴۴،۴۳). اگرچه در دهه گذشته، انجماد آهسته جنین پروتکل غالب در مراکز ناباروری بود، اما در سال‌های اخیر تغییرات مهمی در بهبود پروتکل‌های انجماد شیشه‌ای دیده شد و نتایج به دست آمده از روش انجماد شیشه‌ای مشخص کرد که روش مناسب‌تری در مقایسه با روش آهسته برای انجماد جنین است. در روش انجماد شیشه‌ای، به علت استفاده از غلظت بالای مواد محافظ سرما (حدود ۴۰ درصد) و کوتاهی زمان آب‌گیری (زمان تعادل)، آب به سرعت از سلول خارج شده و در حین انجماد، محیط اطراف سلول به یکباره تبدیل به شیشه می‌شود. محلول‌های انجماد شیشه‌ای معمولاً حاوی مواد محافظ سرما و نفوذپذیر (مثل گلیسرول، اتیلن گلیکول، ۱ و ۲ پروپان‌دیول)، دی ساکاریدهای کوچک (مثل ساکارز، تری‌هالز، گلوکز) و ماکرومولکول‌ها (مثل پروپان‌دیول گلیکول، آلبومین سرم گاوی) می‌باشند. امروزه، مقالات متعددی در مورد افزایش میزان زنده ماندن پس از یخ‌گشایی جنین‌های منجمد شده به هر دو روش انجمادی (۴۵) گزارش شده است. بر اساس مطالعات در دهه اخیر، تعداد نوزادان سالم متولد شده پس از لقاح تخمک منجمد شده و انتقال جنین‌های فریز-ذوب به روش کرایوتاپ افزایش چشمگیری داشته است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که روش کرایوتاپ یک تکنیک کارآمد برای هر دو انجماد جنین و تخمک است (۴۵۸). اگرچه تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر انتقال آلودگی با استفاده از روش کرایوتاپ گزارش نشده است، با این وجود مطالعات بیش‌تری در جهت جلوگیری از احتمال آلودگی متقابل و ارائه سطح ایمنی بالاتر که مطابق با الزامات قانونی در سراسر جهان باشد، ضروری است.

#### اهداء تخمک

امروزه اهداء تخمک به یک بخش جدایی ناپذیر

از تکنیک‌های کمک باروری تبدیل شده است. در ابتدا تخمک‌های اهدایی تازه، در درمان زنان مبتلا به نارسایی تخمدانی زودرس (POF: premature ovarian failure) استفاده شد. در سال‌های اخیر تقاضا برای اهداء تخمک افزایش یافته، به گونه‌ای که آن را به یک گزینه درمانی مناسب برای تعداد زیادی از زنان با ناباروری وابسته به سن تبدیل کرده است (۴۶). در این تکنیک توجه به جوان و سالم بودن اهدا کنندگان تخمک تازه، ضروری است. به عبارت دیگر، اهداء کننده تخمک باید دارای شرایط سنی خاصی باشد؛ ترجیحاً باروری وی قبلاً ثابت شده باشد و تیم درمانی با بررسی‌های لازم، از سلامت وی اطمینان حاصل کرده باشند. دلیل شرط سنی اهداء کننده تخمک این است که زنان جوان به داروهای هورمونی تجویز شده در طول درمان پاسخ بهتری می‌دهند و تخمک‌های سالم و بیش‌تری دارند. هم‌چنین امکان بروز اختلالات ژنتیکی، کم‌تر و درصد موفقیت بارداری آن‌ها بیش‌تر است، اما چرخه سنتی اهدای تخمک تازه در حال حاضر دارای برخی مشکلات می‌باشد. یکی از این مشکلات نیاز به شرایط لازم برای هماهنگ‌سازی چرخه قاعدگی بین دهنده و گیرنده است. در حالی که تخمک می‌تواند جمع‌آوری، منجمد، ذخیره و در نهایت در یک چارچوب زمانی خاص منتقل شود. دیگر نگرانی، عدم وجود اقدامات قرنطینه مناسب در طول اهدای اسپرم و ذخیره آن در صورت لزوم، است. امروزه تقاضا برای تخمک و در پی آن انتظار طولانی مدت برای دریافت آن افزایش یافته است. هم‌چنین این واقعیت وجود دارد که در طی اهداء تخمک تازه، همه دریافت‌کننده‌ها تمایل به دریافت تخمک اهدایی از یک اهدا کننده خاص را داشته باشند (۴۷،۱۳). ساده‌ترین راه حل مقابله با این چالش‌ها، معرفی تکنیک انجماد تخمک به مراکز ناباروری، جهت ذخیره‌سازی تخمک‌های اهدایی است. با کمک این روش، دیگر نیازی به هماهنگ‌سازی چرخه قاعدگی بین دهنده و گیرنده در سیکل‌های کمک باروری نیست. هم‌چنین امکان انجام

تست بیماری های عفونی از اهداء کنندگان وجود دارد که به طور بالقوه باعث کاهش هزینه ها می شود. هم چنین انجماد تخمک و ایجاد بانک های تخمک به گیرنده ها این اجازه را می دهد تا لیست اهداء کنندگان را از لحاظ سالم و جوان بودن بررسی کنند، بنابراین زمان انتظار برای یافتن یک اهداء کننده مناسب را به حداقل می رساند (۴۸). شایان ذکر است که می توان با کمک این تکنیک، تخمک یک اهدا کننده خاص و یا تخمک های مازاد زوج های نابارور مراجعه کننده به مراکز ناباروری را منجمد و پس از آن اهداء کرد. به همین دلیل امروزه در سراسر جهان بخش رو به رشدی از مراکز ناباروری از تخمک های منجمد اهدایی استفاده می کنند. در آمریکا (در سال ۲۰۱۳)، ۳۱۳۰ تخمک از ۲۹۴ اهدا کننده در بانک تخمک ذخیره شده است (۴۸). در حال حاضر از هر هفت بانک تخمک، شش بانک از تکنیک انجماد شیشه ای به جای انجماد آهسته استفاده می کنند. فرآیند انجماد تخمک اثر مستقیم بر میزان موفقیت حاصل از لقاح تخمک اهدایی دارد. یک بانک اهداء کننده تخمک که از تکنیک انجماد آهسته استفاده می کند، میزان بارداری را ۵۰ درصد گزارش کرد (۴۹). اما بر اساس نتایج Nagy و همکاران (۵۰)، پیامد حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک اهدایی منجمد شده با روش انجماد شیشه ای و استفاده از تخمک تازه، از ۲۰ اهدا کننده یکسان، مشابه بود. هم چنین Sole و همکاران (۵۱) اختلاف معنی داری بین میزان تولد زنده حاصل از لقاح تخمک اهدایی منجمد و تخمک تازه گزارش نکردند. به طور خلاصه، مقایسه پیامدهای لقاح تخمک اهدایی تازه و منجمد، ایجاد بانک های تخمک منجمد با تاکید بر روش انجماد شیشه ای را ثابت می کنند. البته، امروزه نگرانی های اخلاقی جدیدی از جمله سهولت انتقال تخمک، به دلیل تجاری شدن بانک های تخمک، بین دو کشور با مقررات، اخلاق و مذهب های مختلف را مطرح ساخته است (۴۸). با این حال با مدیریت دقیق، می توان بانک های تخمک را توسعه داد.

### حفظ باروری در بیماران مبتلا به سرطان

در حال حاضر سرطان پستان شایع ترین نوع سرطان سنین باروری در زنان است و این سرطان در ۱۵ درصد موارد در سن زیر چهل سال رخ می دهد (۱۶). در بسیاری از موارد انتخاب روش های کمورادیوتراپی تنها راه علاج و بهترین استراتژی درمان سرطان است و موجب افزایش جمعیت بازمانده از بیماری های بدخیم گشته است، اما از سوی دیگر برنامه های درمانی بیماران سرطان به دلیل برداشتن اندام های تناسلی و یا استفاده از رادیوتراپی و انواع داروها و مواد سمی می تواند اثر زیان باری بر باروری زنان داشته باشد و در نهایت منجر به نارسایی زودرس تخمدان و کاهش ذخیره فولیکولی تخمدان شود. البته میزان آسیب به ذخیره فولیکولی به سن بیمار، نوع یا دوز داروی شیمی درمانی، همراه بودن دارو با مواد آلکیل کننده به ویژه گنادوتوکسین ها، بستگی دارد (۵۲). این مسئله باعث گردیده تا افراد تحت درمان تا پایان عمر از ناباروری رنج برده و امید زیادی در ارتباط با شانس باروری خود بعد از درمان سرطان نداشته باشند. چون تقاضا برای حفظ باروری در میان این بیماران با بهبود درمان و نجات آن ها از سرطان، افزایش می یابد، بنابراین ضرورت حفظ توان تولید مثلی این افراد بیش از پیش احساس می شود. در این راستا، تکنیک های مختلف روش های کمک باروری از جمله انجماد تخمک، انجماد جنین و انجماد بافت تخمدان، به حفظ توان باروری این افراد کمک بسیاری کرده و در برخی مواقع انجماد جنین یک گزینه درمانی برای این بیماران است، اما همان طور که در متون فوق اشاره شد، انجماد جنین دارای معایب مختلفی از جمله ایجاد اختلافات بزرگ در زمان طلاق می باشد. هم چنین انجماد جنین برای زنان مجرد و یا بیماران جوان بدون یک شریک زندگی ثابت، گزینه مناسبی نیست. هنگامی که شرایط لازم جهت انجماد جنین برای بیمار به دلایل مختلف وجود نداشته باشد، انجماد تخمک می تواند گزینه مناسبی باشد. هم چنین بر اساس مطالعه Filippi و همکاران (۵۳)،

بزرگ و حساس به دما بوده و حاوی مقادیر زیادی آب می‌باشند. بنابراین نسبت سطح به حجم آن‌ها کم است که باعث می‌شود در حین فرآیند انجماد، رشته‌های دوک آسیب دیده و یخ درون سلولی تشکیل گردد (۵۷). اگرچه بخشی از این مشکلات را می‌توان با معرفی پروتکل‌های با قابلیت شروع در هر زمان و استفاده از هورمون آنتی استروژن برای تحریک تخمدان در زنان مبتلا به سرطان سینه کاهش داد، اما هنوز نگرانی‌هایی پیرامون انجماد تخمک بالغ وجود دارد (۵۸). یکی از راه‌حل‌های جایگزین انجماد تخمک بالغ برای جلوگیری از به تاخیر افتادن درمان سرطان عبارتند از انجماد تخمک در مرحله وزیکول ژرینال (GV) و یا استخراج تخمک نابالغ و سپس بالغ شدن در پروسه بلوغ آزمایشگاهی (In vitro maturation : IVM) (۵۹-۶۱) که در این روش دیگر نیازی به تحریک تخمدان نیست (۶۲). چون تخمک‌های نابالغ به علت فقدان دوک متافازی و اندازه کوچک، به آسیب‌های ناشی از فرآیند انجماد، مقاوم تر هستند، انجماد تخمک‌ها در مرحله ژرینال بهتر از مرحله متافاز II می‌باشد (۶۳) هم‌چنین بر اساس نتایج مطالعات، بارداری‌هایی که با کمک انجماد تخمک نابالغ صورت گرفته، افزایش خطر سختی زایمان و یا ناهنجاری‌های مادرزادی را نشان نمی‌دهند و هیچ‌گونه افزایشی در تعداد غیر طبیعی کروموزوم‌ها و یا از دست رفتن آن‌ها مشاهده نشده است (۶۳). از طرفی، اختلال در کاریوتایپ و شکل‌گیری اندام‌ها، اختلال ذهنی و یا کمبود رشد در بچه‌های متولد شده از تخمک‌های منجمد نیز گزارش نشده است (۳۵). هر چند میزان تولد زنده با استفاده از این تکنیک هنوز پایین است. علاوه بر انجماد تخمک، یکی دیگر از راه‌حل‌های مناسب برای جلوگیری از به تاخیر افتادن درمان سرطان، استفاده از بانک بافت تخمدان می‌باشد. در این روش، قطعاتی از بافت تخمدان به وسیله روش‌های لاپاروسکوپی، لاپاروتومی یا اووفورکتومی یک طرفه یا دو طرفه از بدن بیمار خارج شده و پس از تشریح نمونه و جداسازی

انجماد تخمک یک روش جایگزین مناسب برای حفظ باروری در دختران نوجوان و جوان با ذخیره تخمدانی کم یا متوسط می‌باشد، که در دوران کودکی قبل از انجماد قشر تخمدان، تحت شیمی درمانی قرار گرفته‌اند. پیشرفت‌های زیادی که در روش‌های انجماد تخمک ایجاد شده، بدین معنی است که امروزه این تکنیک می‌تواند به طور معمول برای حفظ باروری در زنان مبتلا به سرطان ارائه شود. بر اساس نتایج یک مطالعه، از ۱۰۸ بیمار مبتلا به سرطان سینه تحت درمان حفظ باروری بین سال‌های ۲۰۰۵ و ۲۰۱۰، ۱۶/۷ درصد برای انجماد تخمک اقدام کردند (۵۴). در حالی که در سال ۲۰۱۳، ۷۱/۶ درصد از بیماران مبتلا به سرطان سینه، متقاضی انجماد تخمک برای حفظ باروری بودند (۵۵). اگرچه تولد زنده موفق حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک اهدایی بیماران مبتلا به سرطان گزارش شده است، اما تعداد کمی از بیماران مبتلا به سرطان بعد از درمان بیماری خود از تخمک اهدایی استفاده می‌کنند. برای بیماران مبتلا به سرطان، انجماد تخمک در هر دو مرحله بالغ و نابالغ صورت می‌گیرد، امروزه تخمک‌های بالغ به آسانی در مراکز ناباروری با روش‌های مختلف منجمد می‌شوند و نتایج خوب و قابل قبولی پس از انجماد آن‌ها به دست آمده است، به گونه‌ای که تا به امروز بیش از ۵۰۰ تولد زنده از این روش گزارش شده است. از معایب اصلی منجمد کردن تخمک‌های بالغ یا متافاز II (MII) در بیماران مبتلا به سرطان، نیاز به تحریک تخمدان است که این موضوع باعث به تاخیر افتادن حداقل چند هفته‌ای درمان سرطان این بیماران می‌شود و ممکن است تحریک هورمونی تخمدان خود خطر بیشتری را برای بیمارانی مبتلا به سرطان حساس به هورمون ایجاد کند (۴۰، ۵۶). به علاوه انجماد تخمک بالغ، تشکیل دوک تقسیم را در طی تکمیل میوز به خطر می‌اندازد که در نتیجه این تخریب و یا فقدان رشته‌های دوک، توانایی تخمک برای لقاح و تکوین طبیعی جنین کاهش می‌یابد. هم‌چنین تخمک‌های بالغ که در متافاز میوز II قرار دارند، از نظر اندازه،

مدولای تخمدان، بخش قشری به قطعات کوچکی تقسیم شده که این قطعات بافتی طی روش های مختلف (آهسته و یا شیشه ای و با پروتکل های مختلف) منجمد و در بانک های تخمدان ذخیره می شود. پس از تکمیل فرآیند درمان سرطان، بیمار می تواند مجدداً از ذخایر بافتی خود استفاده نماید. انجماد تخمدان، تعداد فراوانی فولیکول در مراحل مختلف بلوغ را بدون هیچگونه تاخیری در درمان سرطان، حفظ می نماید، اما از جمله معایب این روش آماده شدن بیمار برای انجام عمل جراحی، پیوند متوالی بافت تخمدانی، با خطر بالقوه سلول های بدخیم می باشد (۶۴). با این حال، تعداد نسبتاً اندکی تولد زنده پس از پیوند بافت تخمدان منجمد شده گزارش شده است (۴۵). با توجه به نکات گفته شده، در بیماران مبتلا به سرطان، استفاده از ترکیبی از هر دو روش انجماد تخمک همراه با استفاده از بانک بافت تخمدان می تواند راه حل مناسبی برای حفظ باروری باشد (۳۳). از آنجا که انجماد تخمک به عنوان یک راه حل اساسی برای بیماران مبتلا به سرطان توصیه می شود، باید "پیش از شروع رادیوتراپی و شیمی درمانی" هرچه سریع تر ارزیابی های اولیه برای آن ها انجام شده و روشی مناسب به منظور اعطای حداکثر شانس بارداری برای این افراد انتخاب گردد. از جمله موارد و ضروریات این امر، برقراری ارتباط صحیح و به موقع پزشک انکولوژیست با متخصص زنان و زایمان و مراکز درمان ناباروری است (۶۵). بر اساس یافته های Lee و همکاران (۶۶)، هر دو فرآیند حفظ باروری و شیمی درمانی می تواند خیلی زود و قبل از عمل جراحی سینه در بیماران مبتلا به سرطان شروع شود. بر اساس مطالعات، ۹ نفر از ۳۵ بیماری که قبل از عمل جراحی خود به مراکز ناباروری مراجعه کردند، قادر به تحمل دو چرخه حفظ باروری بودند، در مقابل تنها ۱ مورد از ۵۸ بیمار مراجعه کننده بعد از عمل جراحی توانست یک چرخه حفظ باروری را تحمل کند (۵۴). این در حالی است که انجام چرخه متعدد کمک باروری برای انجماد تعداد بیش تر تخمک (یا

جنین) سودمند است و به طور بالقوه منجر به نرخ موفقیت بیش تر می شود.

#### انجماد تخمک انتخابی

تقریباً در همه کشورها، تعداد فزاینده ای از زنان وجود دارند که به هر دلیل نمی توانند یا نمی خواهند در اوایل جوانی بچه دار شوند و مادر شدن را به تعویق می اندازند (۶۷). امروزه به دلیل پیشرفت های چشمگیر در تکنیک های انجماد تخمک، ناباروری وابسته به سن کاهش یافته است. به گونه ای که "انجماد تخمک اجتماعی"، به یک موضوع محبوب در رسانه ها تبدیل شده و تقاضا برای انجماد تخمک سرعت گرفته است (۵۵). اگر چه این روش نسبتاً جدید است، اما در حال حاضر نگرانی های پیرامون آن در حال رشد است. استفاده از تخمک جوان می تواند خطرات سقط های ناشی از ناهنجاری های آنوپلوئیدی مرتبط با پیری تخمک را کاهش دهد (۶۸). استفاده از انجماد تخمک منجمد شده خود فرد، اجازه وجود یک رابطه ژنتیکی بین مادر و کودک را می دهد که از طریق تخمک اهدایی نمی توان به دست آید. هم چنین شانس بالاتری از بارداری در مقایسه با لقاح آزمایشگاهی از تخمک پیر را ایجاد می کند. بر اساس نتایج مطالعه اخیر، ۱۴۶۸ زن به دلایلی غیر از سرطان، تحت انجماد تخمک انتخابی قرار گرفتند یا به عبارت دیگر متقاضی انجماد تخمک و ذخیره آن در بانک تخمک بودند که از این تعداد فقط ۱۳۷ نفر از تخمک منجمد شده خود، استفاده کردند (۶۹).

#### ناباروری وابسته به سن

تجربه کاهش باروری توسط زنان، که تا حد زیادی به کاهش تعداد فولیکول و کیفیت تخمک وابسته است، بعد از سن ۳۵ سالگی شتاب می گیرد که به این پدیده یائسگی گویند (۷۰). به همین دلیل خطر ابتلا به اختلالات کروموزومی در جنین و از دست دادن جنین در بارداری با سنین بالا به شدت افزایش می یابد (۷۱). امروزه

ناباروری وابسته به سن به دلایل مختلف دیده می‌شود. بسیاری از خانم‌ها ازدواج خود را تا حدود ۲۵ تا ۳۰ سالگی به تاخیر می‌اندازند، این مساله همراه با تاخیر در تولد اولین فرزند، موجب کاهش در تعداد فرزندان در هر خانواده می‌شود، بنابراین تعداد فرزندان دلخواه یک خانواده تحت تاثیر قرار خواهد گرفت. براساس نتایج حاصل از یک مطالعه اخیر که به بررسی رابطه ناباروری وابسته به سن و شانس تحقق یک خانواده با اندازه مطلوب پرداخته است، نرخ باروری طبیعی و حاصل از لقاح آزمایشگاهی با استفاده از یک سیستم کامپیوتری ثبت و نتایج حاصل نشان داد که اگر بارداری در سنین بالای ۳۵ سالگی اتفاق بیفتد، احتمال تک فرزند بودن خانواده ۹۰ درصد است، اما اگر بارداری در سن ۲۸ سالگی اتفاق بیفتد، احتمال ایجاد خانواده با سه فرزند، ۹۰ درصد می‌باشد. در غیاب درمان (لقاح آزمایشگاهی)، این سنین به ترتیب به ۳۲ و ۲۳ کاهش می‌یابد (۷۲). نتایج مطالعات مختلف نشان داد که بسیاری از زنان از اثر سن بر باروری بی اطلاع هستند (۷۳) و از آن جا که تاخیر در فرزندآوری با عوارض بارداری و زایمان همراه است، خانواده‌هایی که در سنین بالا اقدام به فرزندآوری می‌کنند، باید به این مسایل دقت داشته باشند و هر فردی که در سنین باروری است، بایستی در زمینه عوارض بارداری ناشی از بالا رفتن سن آگاه باشد تا آگاهانه تصمیم بگیرد. امروزه پتانسیل باروری در سنین بالا را می‌توان با استفاده از تخمک‌های زنی جوان، افزایش داد. شایان ذکر است که میزان موفقیت حاصل از برنامه‌های کمک باروری در زنان مسن پایین است، به همین دلیل در صورت استفاده از تخمک خود آن‌ها، تحت دوره‌های متعددی از برنامه‌های کمک باروری قرار می‌گیرند (۷۴). اما با استفاده از تخمک‌های زنی جوان می‌توان میزان موفقیت باروری حاصل از لقاح آزمایشگاهی در افراد مسن‌تر را افزایش داد. فرزندان حاصل از تخمک‌های زنی، ژنتیک خود را از مادر نمی‌گیرند و این قضیه به لحاظ روحی و احساسی، تاثیر منفی بر مادر دارد. به همین

دلیل بررسی‌های اخیر از ۱۸۳ زن نشان داد که ۱۵ درصد از زنان نابارور ترجیح می‌دهند که بدون فرزند باشند تا این که از تخمک‌های اهدایی استفاده کنند (۷۵).

#### انجماد تخمک "اجتماعی": محدودیت‌های اخلاقی و اجتماعی

انجماد تخمک به خانم‌ها اجازه کنترل بهتری بر باروری خود را می‌دهد و به عنوان یک «آزادی بیولوژیکی» برای زنان تعریف شده است. به عبارت دیگر، انجماد تخمک فرصتی را فراهم می‌آورد تا زنان بتوانند بدون دغدغه از ناباروری وابسته به سن به نقش اجتماعی خود بپردازند (۷۶). در این جا یک اختلاف جنسیتی آشکار وجود دارد، به گونه‌ای که مردان قادر به تکثیر سلول تولید مثلی خود، حتی در سنین بسیار بالاتر از زنان هستند، در حالی که در زنان، ناباروری وابسته به سن وجود دارد (۷۷). با این حال، زنان به دلایل اجتماعی متنوع از جمله داشتن مجال بیش‌تر برای ادامه تحصیل، تمرکز بر حرفه خود و پیشرفت شغلی، نبود یک شریک زندگی مناسب یا این که هنوز احساس آمادگی برای ازدواج را پیدا نکرده‌اند، یا حتی امکان ابتلا به سرطان، نمی‌توانند یا نمی‌خواهند در اوایل جوانی بچه‌دار شوند (۶۸). تکنیک‌های انجماد تخمک به زنان اجازه انتخاب زمان مناسب برای بارداری را می‌دهد. هرچند هنوز تعداد زنانی که تخمک خود را منجمد می‌کنند زیاد نیست، اما این روش به زنان اجازه می‌دهد، دیرتر بچه‌دار شوند و از موقعیت‌های شغلی خود استفاده کنند و نیز از اضطراب ناشی از ناباروری وابسته به سن کم می‌کند. هم‌چنین، بیش‌تر مطالعات بر انجماد تخمک، به عنوان روش اصلی حفظ باروری، به ویژه در گروه سنی بالا تأکید دارند (۴۱).

اخیراً برخی نگرانی‌های مرتبط با انجماد تخمک، مثل خطرات موجود در روند تحریک تخمدان و بازیابی تخمک مطرح شده است (۷۸). در جهان واقعی، زنان تا وقتی احساس نکنند سن باروری آن‌ها در حال گذر است، تخمک خود را منجمد نمی‌کنند. بنابراین هنگامی

که زنان مسن تر تصمیم به استفاده از تخمک منجمد خود دارند، توجه به این نکته ضروریست که به دلیل افزایش سن با احتمال بیش تری دچار عوارض بارداری مانند پره اکلامپسی، فشارخون بالا، دیابت بارداری و اجبار استفاده از عمل سزارین رو به رو می شوند (۷۹)، اگر چه، این خطرات در زنان مسن که با استفاده از روش لقاح آزمایشگاهی نیز باردار می شوند نیز وجود دارد (۶۸). در دسترس بودن تخمک منجمد شده، زنان را به سمت به تعویق انداختن مادر شدن تشویق می کند. بنابراین دادن اطلاعات صحیح در مورد انجماد تخمک به زنان و میزان موفقیت های حاصل از این تکنیک بسیار اهمیت دارد. امروزه شرکت های مانند Apple و فیس بوک، در مورد انجماد تخمک اجتماعی " به مخاطبان خود اطلاعات مفید و دقیقی ارائه داده اند. هم چنین این شرکت ها به کارمندان زن خود به عنوان مزایای شغلی، کمک هزینه انجماد و نگهداری تخمک می پردازند. هر چند این مزایا ممکن است احساس به تاخیر انداختن زایمان تا سنین ۵۰ تا ۶۰ سالگی را افزایش دهد (۷) با وجود نگرانی های موجود در مورد هزینه های بالای انجماد تخمک، در مطالعه ای Hirshfeld (۸۰) مشخص شد که اگر زنان تخمک خود را در سن ۲۵ سالگی منجمد و در سن ۴۰ سالگی تصمیم به استفاده از آن بگیرند، این امر می تواند هزینه استراتژی کم تری نسبت به یک تکنیک ساده کمک باروری داشته باشد. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه ای در سال ۲۰۱۵، انجماد تخمک در سنین کم تر از ۳۸ سالگی، هزینه های دستیابی به یک تولد زنده را نسبت به سنین بالای ۴۰ کاهش می دهد (۸۱). در مطالعه مشابه دیگر ثابت شد که انجماد تخمک یک استراتژی مقرون به صرفه تر از لقاح آزمایشگاهی است (۳۴). در پاسخ به هزینه های بالا و کمبود اهدا کننده تخمک، در برخی از کلینیک های ناباروری در حال حاضر یک برنامه «انجماد و به اشتراک گذاشتن تخمک» ارائه شده است که در آن زنان می توانند تعدادی از تخمک های منجمد خود را به منظور درمان رایگان و یا با تخفیف، اهدا کنند. با

توجه به نکات گفته شده می توان استدلال کرد که زنان باید به داشتن فرزند در اوایل دوره تولید مثلی خود، به جای سرمایه گذاری در یک تکنیک گران با هیچ تضمینی از بارداری موفق، تشویق شوند.

#### نگرش های پیرامون انجماد اجتماعی " تخمک

امروزه خیلی از زنان می توانند تخمک خود را به طور انتخابی منجمد کنند، اما اطلاعات و آگاهی آن ها از ناباروری وابسته به سن پایین است (۸۲). پژوهشگران در بررسی ۱۰۴۹ زن بلژیکی دریافتند که ۷۷/۶ درصد افراد قبلاً از تکنیک های انجماد تخمک آگاه بوده اند، در حالی که ۳۱/۵ درصد از زنان به طور بالقوه تخمک خود را منجمد کرده اند. نتایج مطالعه ای دیگر نشان داد که فقط ۳۶/۴ درصد از ۱۲۹ نفر دانشجوی پزشکی در سنگاپور که تخمک خود را منجمد کردند، از تکنیک های انجماد تخمک اطلاع داشتند (۸۳). هم چنین براساس مطالعه Hodes (۲۰۱۳) در آمریکا (۷۵)، دلیل اصلی برای به تاخیر انداختن زایمان (۸۸ درصد)، عدم وجود یک شریک زندگی ثابت است. شایان ذکر است که ۸۴ درصد از افراد مورد بررسی، سن بالای ۳۵ سال داشتند و این به طور قابل توجهی پیشنهاد می دهد که سن، اصلی ترین عامل تاثیر گذار بر پیامدهای انجماد تخمک است. پس از انجماد تخمک، ۵۳ درصد از زنان اظهار داشت که آن ها احساس امنیت بیش تری در مورد آینده باروری خود دارند. نتایج یک مطالعه گروهی از ۶۵ زن نشان داد که ۶۵ درصد از آن ها تمایل به انجماد تخمک خود به عنوان یک بیمه برای باروری خود دارند اما ۴۹ درصد خواهان یافتن همسر بودند (۴۲).

#### پیگیری انجماد تخمک اجتماعی

اطلاعات زیادی در مورد نتایج انجماد تخمک انتخابی در دسترس نیست، مثلاً اطلاعات کمی در مورد زنانی که از تخمک منجمد شده خود استفاده کرده اند، وجود دارد (۸۳). بر اساس مطالعه Hodes و همکاران (۷۵)،

تنها ۶ درصد از زنان (۱۱ نفر) تخمک منجمد شده خود را در طول زمان ۶ سال بعد از انجماد استفاده کرده‌اند. از این تعداد، ۳ نفر گزارش یک بارداری موفق پس از ذوب دادند، در حالی که ۵ بارداری ناموفق بود و ۳ نفر دیگر وضعیت خود را اعلام نکردند. Stoop و همکاران (۴۲) گزارش کردند که تنها ۵۰/۸ درصد از زنان که تخمک خود را منجمد می‌کنند، احتمالاً در آینده از آن استفاده می‌کنند. جالب است که وقتی مقایسه بین رابطه این زنان و انتخاب باروری پس از انجماد تخمک، با کسانی که تخمک خود را منجمد نکردند، صورت گرفت، هیچ تفاوت قابل توجهی پیدا نشد. بر اساس مطالعه Baldwin و همکاران، در پیگیری ۲۳ زنی که تخمک آن‌ها منجمد شده بود، ۲ نفر به استفاده از آن روی آوردند که یکی از آن‌ها بارداری موفق را گزارش کرد (۸۴).

#### دلایل دیگر انجماد تخمک

علاوه بر مباحث اهداء تخمک، حفظ باروری برای بیماران مبتلا به سرطان و انجماد تخمک اجتماعی، در این جا تعداد فزاینده‌ای از دیگر دلایل برای انجماد تخمک وجود دارد. انجماد تخمک می‌تواند گزینه درمانی مناسب برای حفظ باروری در زنان بیمار با طیف وسیعی از دلایل پزشکی به جز سرطان باشد (۱۶)، مانند مواردی که تخمدان‌ها بر اثر معالجه آندومتریوز یا عفونت لگنی، توانایی خود را در تولید تخمک سالم از دست می‌دهند و ذخایر تخمدانی آن‌ها پس از جراحی کاهش می‌یابد (۸۵)، زنانی با بیماری‌های خود ایمنی (۸۶)، زنان نیازمند به درمان با گنادوتوکسین‌ها و ناهنجاری‌های ژنتیکی که در معرض کاهش باروری و یا خطر یائسگی زودرس هستند (۸۷). اهدای تخمک یکی از روش‌های درمانی برای زنانی است که دارای تخمدان‌های نابالغ یا دچار بیماری‌های ژنتیکی جدی وابسته به جنس و اتوزومی می‌باشند. شایان ذکر است که در صورت ابتلای مادر به بیماری ژنتیکی، احتمال انتقال بیماری به کودک وجود دارد و در این گونه موارد نیز می‌توان به منظور

پیشگیری از ابتلای کودک، از تخمک اهدایی استفاده نمود. هم‌چنین استفاده از تخمک اهدایی امکان درمان ناباروری را در بسیاری از زوج‌هایی که به هر دلیل از داشتن فرزند محروم بوده‌اند فراهم نموده است. استفاده از این روش برای زنانی توصیه می‌شود که دارای رحم سالم با قابلیت نگهداری جنین هستند، اما تخمدان‌های ایشان تخمک مناسبی تولید نمی‌کند. انجماد تخمک هم‌چنین می‌تواند یک گزینه مناسب برای حفظ باروری در عمل جراحی تغییر جنسیت را فراهم کند. هم‌چنین بعد از این که اقدامات ارزیابی ذخیره تخمدان با استفاده از تجهیزات بیوفیزیکی (تعداد فولیکول آنترال) و بیوشیمیایی (هورمون ضد مولر، هورمون تحریک‌کننده فولیکولی) صورت گرفت، بسیاری از زنان بدون علائم، به عنوان افراد در معرض خطر یائسگی زودرس شناسایی می‌شوند. اگر چه اندازه‌گیری ذخیره تخمدان نمی‌تواند یک وسیله برای پیش‌بینی بارداری طبیعی باشد، اما یک استراتژی معقول برای این بیماران، در نظر گرفتن انجماد تخمک انتخابی است. یکی دیگر از کاربردهای مفید انجماد تخمک، در وضعیتی که همسر قادر به تولید نمونه اسپرم در روز لقاح آزمایشگاهی نباشد، بنابراین تخمک به سرعت باید منجمد شود یا به عبارتی انجماد اورژانسی تخمک انجام می‌گیرد (۸۸). بنابراین انجماد شیشه‌ای به عنوان یک استراتژی کارآمد برای ذخیره‌سازی و انباشت تخمک‌های مازاد از چند چرخه تحریک تخمدان قبل از لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین پیشنهاد می‌شود (۶۴).

به چه کسانی توصیه می‌شود تخمک خود را منجمد کنند؟

۱- دختران بالغ و زنان جوانی که دچار سرطان یا بیماری‌هایی می‌شوند که نیاز به جراحی هر دو تخمدان، شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی لگنی دارند و مسلماً این درمان‌ها، قدرت باروری آنان را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

۲- زنانی که سابقه خانوادگی یائسگی پیش از موعد دارند.

۳- زنانی که به هر دلیل نمی توانند یا نمی خواهند در اوایل جوانی بچه دار شوند. با توجه به این که سن در کیفیت تخمک ها موثر است، باید زنان جوان تر تخمک خود را منجمد کنند تا در سال های بعد از آن استفاده کنند. بانک تخمک علاوه بر حفظ قدرت باروری زنان، می تواند منبع قابل اطمینان و در دسترسی به محققین بدهد که از آن برای تحقیقات و تولید سلول های بنیادی استفاده شود تا به پیشرفت دانش بشری در زمینه بیولوژی تولید مثل کمک شایانی کند. هم چنین این تکنولوژی به محققین اجازه می دهد که بیماری های مختلف را در تخمک بررسی کنند و چه بسا در آینده بتوان تخمک ها را از نظر بیماری های ژنتیکی نیز غربالگری کرد.

در پایان می توان نتیجه گرفت که با توجه به افزایش سن اولین بارداری در بسیاری از کشورها آن هم به دلیل مشکلات اجتماعی، اقتصادی و هم چنین افزایش درصد ناباروری زنان در سال های آتی، حفظ باروری در سنین جوانی و پیش از شروع درمان سرطان از اهمیت خاصی برخوردار است. بهترین گزینه، برای حفظ باروری در زنان و دختران مبتلا به سرطان که در معرض خطر از دست دادن باروری به دلایل متنوع از جمله شیمی درمانی و اشعه درمانی، مشکلات ارگان های تولیدمثلی، تخمدان های نارس و هم چنین زنانی که به بیماری های مزمن مبتلا هستند، یا به دلایل شخصی بارداری را به تعویق انداخته اند، انجماد تخمک است. این روش نگرانی های مذهبی، اخلاقی و حقوقی ذخیره سازی

جنین را به همراه نخواهد داشت. به علاوه ذخیره سازی تخمک منجمد، می تواند در اهدای تخمک و تأسیس بانک تخمک مؤثر باشد. گرچه این تکنولوژی بیش از سه دهه قدمت دارد، اما هنوز در تحقیقات مختلف نتایج متغیری نشان داده می شود. اگرچه گزارشی از ایجاد ناهنجاری در فرزندان حاصل از روش های انجمادی کمک باروری گزارش نشده و با وجود نتایج امیدوارکننده، هنوز نگرانی هایی در مورد امکان آنپلوئیدی و یا اختلالات کاریوتیپیک، ناهنجاری های اندامی و دیگر مسائل تکوینی وجود دارد، بنابراین هنوز تحقیقات بیش تری در مورد انتخاب بهترین تکنیک انجماد تخمک در بیماران سرطانی و افراد نابارور، انتخاب بهترین روش انجماد مورد استفاده و میزان موفقیت حاصل از آن ها، انتخاب بهترین مرحله تکوینی برای انجماد تخمک و هم چنین اصلاح روش های انجمادی موجود و در حالت ایده آل نظارت بر انجام آن ها مورد نیاز است. نظارت بر انجام تکنیک های انجماد تخمک باید شامل بررسی بلند مدت نوزادان متولد شده از تخمک های منجمد باشد. به علاوه همانند تمام تکنیک های کمک باروری، توجه به مسائل اخلاقی در تکنیک انجماد تخمک، به ویژه در مورد «انجماد تخمک اجتماعی» بسیار ضروری است. در پایان شایان ذکر است که انجماد تخمک یک روش هیجان انگیز و سودمند برای بسیاری از بیماران در حال و آینده خواهد بود.

## References

1. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 2006; 24(18): 2917-2931.
2. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*. 1986; 327(8486): 884-886.
3. Van Uem J, Siebzehnrübl E, Schuh B, Koch R, Trotnow S, Lang N. Birth after cryopreservation of unfertilised oocytes. *Lancet* 1987; 329 (8535): 752-753.
4. Hunter J, Bernard A, Fuller B, McGrath J, Shaw R. Plasma membrane water permeabilities of human oocytes: the temperature dependence of water movement in individual cells. *J Cell Physiol* 1992; 150(1): 175-179.

5. Smith GD, Serafini PC, Fioravanti J, Yadid I, Coslovsky M, Hassun P, et al. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertil Steril* 2010; 94(6): 2088-2095.
6. Wise J. UK lifts ban on frozen eggs. *BMJ* 2000; 320(7231): 334.
7. American Society for Reproductive Medicine. Assisted Reproductive Technology, National Summary Report. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. 2014.
8. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Hum Reprod Update* 2016; 22(4): 440-449.
9. Kasai M, Mukaida T. Cryopreservation of animal and human embryos by vitrification. *Reprod Biomed Online* 2004; 9(2): 164-170.
10. Vicente J, Garcia-Ximenez F. Osmotic and cryoprotective effects of a mixture of DMSO and ethylene glycol on rabbit morulae. *Theriogenology* 1994; 42(7): 1205-1215.
11. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001; 16(3): 411-416.
12. Saragusty J, Arav A. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. *Reproduction* 2011; 141(1): 1-19.
13. Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 2011; 96(2): 277-285.
14. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005; 11(3): 300-308.
15. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology* 2007; 67(1): 73-80.
16. Donnez J, Dolmans M-M. Fertility preservation in women. *Nat Rev Endocrinol* 2013; 9(12): 735-749.
17. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2006; 86(1): 70-80.
18. Cao YX, Chian RC, editors. Fertility preservation with immature and in vitro matured oocytes. *Semin Reprod Med* 2009; 27(6): 456-464.
19. Oehninger S, Duru NK, Srisombut C, Morshedi M. Assessment of sperm cryodamage and strategies to improve outcome. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 169(1): 3-10.
20. Prentice J, Singh J, Dochi O, Anzar M. Factors affecting nuclear maturation, cleavage and embryo development of vitrified bovine cumulus-oocyte complexes. *Theriogenology* 2011; 75(4): 602-609.
21. Parmegiani L, Cognigni G, Bernardi S, Cuomo S, Ciampaglia W, Infante F, et al. Efficiency of aseptic open vitrification and hermetical cryostorage of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2011; 3(4): 505-512.
22. Parmegiani L, Accorsi A, Cognigni GE, Bernardi S, Troilo E, Filicori M. Sterilization of liquid nitrogen with ultraviolet irradiation for safe vitrification of human oocytes or embryos. *Fertil Steril* 2010; 94(4): 1525-1528.
23. Criado E, Moalli F, Polentarutti N, Albani E, Morreale G, Menduni F, et al. Experimental contamination assessment of a novel closed ultravitrification device. *Fertil Steril* 2011; 95(5): 1777-1779.
24. Bonetti A, Cervi M, Tomei F, Marchini M, Ortolani F, Manno M. Ultrastructural evaluation

- of human metaphase II oocytes after vitrification: closed versus open devices. *Fertil Steril* 2011; 95(3): 928-935.
25. Paffoni A, Guarneri C, Ferrari S, Restelli L, Nicolosi AE, Scarduelli C, et al. Effects of two vitrification protocols on the developmental potential of human mature oocytes. *Reprod Biomed Online* 2011; 22(3): 292-298.
  26. Papatheodourou A, Vanderzwalmen P, Panagiotidis Y, Kasapi L, Goudakou M, Pasadaki T, et al. Open versus closed oocyte vitrification system: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Reprod Biomed Online* 2013; 26(6): 595-602.
  27. Brison D, Cutting R, Clarke H, Wood M. ACE consensus meeting report: oocyte and embryo cryopreservation Sheffield 17.05. 11. *Human Fertil* 2012; 15(2): 69-74.
  28. Seki S, Mazur P. The dominance of warming rate over cooling rate in the survival of mouse oocytes subjected to a vitrification procedure. *Cryobiology* 2009; 59(1): 75-82.
  29. Mazur P, Seki S. Survival of mouse oocytes after being cooled in a vitrification solution to -196 C at 95 to 70,000 C/min and warmed at 610 to 118,000 C/min: A new paradigm for cryopreservation by vitrification. *Cryobiology* 2011; 62(1): 1-7.
  30. Cao Y-X, Xing Q, Li L, Cong L, Zhang Z-G, Wei Z-L, et al. Comparison of survival and embryonic development in human oocytes cryopreserved by slow-freezing and vitrification. *Fertil Steril* 2009; 92(4): 1306-1311.
  31. Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, Scarduelli C, Capalbo A, Vajta G, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification: an observational longitudinal cohort multicentric study. *Human Reprod* 2012; 27(6): 1606-1612.
  32. Porcu E, Fabbri R, Ciotti P, Marsella T, Balicchia B, Damiano G, et al. Cycles of human oocyte cryopreservation and intracytoplasmic sperm injection: results of 112 cycles. *Fertil Steril* 1999; 72(Suppl 1): S2.
  33. Donnez J, Dolmans M-M. Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32(8): 1167-1170.
  34. van Loendersloot LL, Moolenaar LM, Mol BWJ, Repping S, van der Veen F, Goddijn M. Expanding reproductive lifespan: a cost-effectiveness study on oocyte freezing. *Hum Reprod* 2011; 26(11): 3054-3060.
  35. Chian R-C, Huang JY, Tan SL, Lucena E, Saa A, Rojas A, et al. Obstetric and perinatal outcome in 200 infants conceived from vitrified oocytes. *Reprod Biomed Online* 2008; 16(5): 608-610.
  36. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online* 2009; 18(6): 769-776.
  37. Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohí J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertil Steril* 2014; 102(4): 1006-1015.
  38. Kushnir VA, Barad DH, Albertini DF, Darmon SK, Gleicher N. Outcomes of fresh and cryopreserved oocyte donation. *JAMA* 2015; 314(6): 623-624.
  39. Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B, et al. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. *Hum Reprod* 2012; 27(5): 1231-1237.
  40. Baldwin K, Culley L, Hudson N, Mitchell H. Reproductive technology and the life course:

- current debates and research in social egg freezing. *Hum Fertil* 2014; 17(3): 170-179.
41. Ho J, Woo I, Bendikson K, Paulson R, Chung K. Is oocyte cryopreservation as effective as embryo cryopreservation in freezing eggs as effective as freezing embryos to achieving live births? *Fertil Steril* 2016; 105(2): e21-e22.
  42. Stoop D, Maes E, Polyzos N, Verheyen G, Tournaye H, Nekkebroeck J. Does oocyte banking for anticipated gamete exhaustion influence future relational and reproductive choices? A follow-up of bankers and non-bankers. *Human Reprod* 2015; 30(2): 338-344.
  43. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera M, Seracchioli R, Ciotti P, et al. Oocyte cryopreservation. *Human Reprod* 1998; 13(suppl\_4): 98-108.
  44. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983; 305(5936): 707-709.
  45. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update* 2017; 23(2): 139-155.
  46. Kawwass JF, Monsour M, Crawford S, Kissin DM, Session DR, Kulkarni AD, et al. Trends and outcomes for donor oocyte cycles in the United States, 2000-2010. *JAMA* 2013; 310(22): 2426-2434.
  47. Cobo A, Remohí J, Chang C-C, Nagy ZP. Oocyte cryopreservation for donor egg banking. *Reproductive Biomedicine Online* 2011; 23(3): 341-346.
  48. Quaas AM, Melamed A, Chung K, Bendikson KA, Paulson RJ. Egg banking in the United States: current status of commercially available cryopreserved oocytes. *Fertil Steril* 2013; 99(3): 827-831.
  49. Akin JW, Bell KA, Thomas D, Boldt J. Initial experience with a donor egg bank. *Fertil Steril* 2007; 88(2): 497.
  50. Nagy ZP, Chang C-C, Shapiro DB, Bernal DP, Elsner CW, Mitchell-Leef D, et al. Clinical evaluation of the efficiency of an oocyte donation program using egg cryobanking. *Fertil Steril* 2009; 92(2): 520-526.
  51. Solé M, Santaló J, Boada M, Clua E, Rodríguez I, Martínez F, et al. How does vitrification affect oocyte viability in oocyte donation cycles? A prospective study to compare outcomes achieved with fresh versus vitrified sibling oocytes. *Human Reprod* 2013; 28(8): 2087-2092
  52. Fleischer RT, Vollenhoven BJ, Weston GC. The effects of chemotherapy and radiotherapy on fertility in premenopausal women. *Obstet Gynecol Surv* 2011; 66(4): 248-254.
  53. Filippi F, Meazza C, Paffoni A, Raspagliesi F, Terenziani M, Somigliana E. Egg freezing in childhood and young adult cancer survivors. *Pediatrics* 2016; 138(4): e20160291.
  54. Kim J, Oktay K, Gracia C, Lee S, Morse C, Mersereau JE. Which patients pursue fertility preservation treatments? A multicenter analysis of the predictors of fertility preservation in women with breast cancer. *Fertil Steril* 2012; 97(3): 671-676.
  55. Garcia-Velasco JA, Domingo J, Cobo A, Martínez M, Carmona L, Pellicer A. Five years' experience using oocyte vitrification to preserve fertility for medical and nonmedical indications. *Fertil Steril* 2013; 99(7): 1994-1999.

56. Kim SS, Klemp J, Fabian C. Breast cancer and fertility preservation. *Fertility and Sterility* 2011; 95(5): 1535-1543.
57. Wunder D. Social freezing in Switzerland and worldwide—a blessing for women today. *Swiss Med Wkly*. 2013; 143: w13746.
58. Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2013; 100(6): 1673-1680.
59. Aghaz F, Khazaei M. Reactive oxygen species generation and use of antioxidants during in vitro maturation of oocytes: a Review. *Int J Fertil Steril* 2017; 11(2): 63-70.
60. Aghaz F, Hajarian H, Shabankareh HK, Abdolmohammadi A. Effect of sericin supplementation in maturation medium on cumulus cell expansion, oocyte nuclear maturation, and subsequent embryo development in Sanjabi ewes during the breeding season. *Theriogenology* 2015; 84(9): 1631-1635.
61. Aghaz F, Hajarian H, Shabankareh HK. Enhanced in vitro developmental competence of sheep embryos following sericin supplementation of the in vitro maturation and in vitro culture media. *Small Ruminant Res* 2016; 136: 257-260.
62. Oktay K, Buyuk E, Rodriguez-Wallberg K, Sahin G. In vitro maturation improves oocyte or embryo cryopreservation outcome in breast cancer patients undergoing ovarian stimulation for fertility preservation. *Reprod Biomed Online* 2010; 20(5): 634-638.
63. Yang H, Lee HH, Lee HC, Ko DS, Kim SS. Assessment of vascular endothelial growth factor expression and apoptosis in the ovarian graft: can exogenous gonadotropin promote angiogenesis after ovarian transplantation? *Fertil Steril* 2008; 90(4): 1550-1558.
64. Hoekman EJ, Smit VT, Fleming TP, Louwe LA, Fleuren GJ, Hilders CG. Searching for metastases in ovarian tissue before autotransplantation: a tailor-made approach. *Fertil Steril* 2015; 103(2): 469-477.
65. Kim MK, Lee DR, Han JE, Kim YS, Lee WS, Won HJ, et al. Live birth with vitrified-warmed oocytes of a chronic myeloid leukemia patient nine years after allogeneic bone marrow transplantation. *J Assist Reprod Genet* 2011; 28(12): 1167-1170.
66. Lee S, Heytens E, Moy F, Ozkavukcu S, Oktay K. Determinants of access to fertility preservation in women with breast cancer. *Fertil Steril* 2011; 95(6): 1932-1936.
67. Kneale D, Joshi H. Postponement and childlessness: evidence from two British cohorts. *Demogr Res* 2008; 19: 1935-1968.
68. Goold I, Savulescu J. In favour of freezing eggs for non medical reasons. *Bioethics* 2009; 23(1): 47-58.
69. Cobo A, Garrido N, Pellicer A, Remohí J. Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and development of a predictive model for oocyte survival rate. *Fertil Steril* 2015; 104(6): 1426-1434.
70. Sozou PD, Hartshorne GM. Time to pregnancy: a computational method for using the duration of non-conception for predicting conception. *PLoS One* 2012; 7(10): 46544.
71. Andersen A-MN, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ* 2000; 320(7251): 1708-1712.
72. Habbema JDF, Eijkemans MJ, Leridon H, te Velde ER. Realizing a desired family size: when should couples start? *Hum Reprod* 2015; 30(9): 2215-2221.

73. Daniluk JC, Koert E, Cheung A. Childless women's knowledge of fertility and assisted human reproduction: identifying the gaps. *Fertil Steril* 2012; 97(2): 420-426.
74. Leridon H. Can assisted reproduction technology compensate for the natural decline in fertility with age? A model assessment. *Hum Reprod* 2004; 19(7): 1548-1553.
75. Hodes-Wertz B, Druckenmiller S, Smith M, Noyes N. What do reproductive-age women who undergo oocyte cryopreservation think about the process as a means to preserve fertility? *Fertil Steril* 2013; 100(5): 1343-1349.
76. Homburg R, van der Veen F, Silber SJ. Oocyte vitrification—women's emancipation set in stone. *Fertil Steril* 2009; 91(4): 1319-1320.
77. Dondorp WJ, De Wert GM. Fertility preservation for healthy women: ethical aspects. *Human Reprod* 2009; 24(8): 1779-1785.
78. Baylis F. Left out in the cold: arguments against non-medical oocyte cryopreservation. *J Obstet Gynaecol Can* 2015; 37(1): 64-67.
79. Joseph KS, Allen AC, Dodds L, Turner LA, Scott H, Liston R. The perinatal effects of delayed childbearing. *Obstet Gynecol* 2005; 105(6): 1410-1418.
80. Hirshfeld-Cytron J, Grobman WA, Milad MP. Fertility preservation for social indications: a cost-based decision analysis. *Fertil Steril* 2012; 97(3): 665-670.
81. Devine K, Mumford SL, Goldman KN, Hodes-Wertz B, Druckenmiller S, Propst AM, et al. Baby budgeting: oocyte cryopreservation in women delaying reproduction can reduce cost per live birth. *Fertil Steril* 2015; 103(6): 1446-1453.
82. Stoop D, Cobo A, Silber S. Fertility preservation for age-related fertility decline. *Lancet* 2014; 384(9950): 1311-1319.
83. Stoop D, Nekkebroeck J, Devroey P. A survey on the intentions and attitudes towards oocyte cryopreservation for non-medical reasons among women of reproductive age. *Hum Reprod* 2011; 26(3): 655-661.
84. Baldwin K, Culley L, Hudson N, Mitchell H, Lavery S. Oocyte cryopreservation for social reasons: demographic profile and disposal intentions of UK users. *Reprod Biomed Online* 2015; 31(2): 239-245.
85. Elizur SE, Chian R-C, Holzer HE, Gidoni Y, Tulandi T, Tan SL. Cryopreservation of oocytes in a young woman with severe and symptomatic endometriosis: a new indication for fertility preservation. *Fertil Steril* 2009; 91(1): 293.
86. Elizur S, Chian R, Pineau C, Son W, Holzer H, Huang J, et al. Fertility preservation treatment for young women with autoimmune diseases facing treatment with gonadotoxic agents. *Rheumatology* 2008; 47(10): 1506-1509.
87. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update* 2007; 68(4): 196-202.
88. Song WY, Sun YP, Jin HX, Xin ZM, Su YC, Chian RC. Clinical outcome of emergency egg vitrification for women when sperm extraction from the testicular tissues of the male partner is not successful. *Syst Biol Reprod Med* 2011; 57(4): 210-213.