

مقاله اصلی

مروری بر ساخت تخمدان مصنوعی با استفاده از زیست مهندسی و عوامل موثر بر بهبود نتایج آن

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۲

خلاصه

مقدمه: تلاش به منظور حفظ توانایی باروری و افزایش کیفیت زندگی بازماندگان مبتلا به سرطان، نارسایی زودرس تخمدان (POF)، بیماری‌های خود ایمنی (۱) و افرادی با نقایص ژنتیکی نظیر بیماری ترنر (Turner Syndrome) توجه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است و به دلیل آثار گنادوتوکسیک درمان سرطان، حفظ باروری پیش از آغاز دوره درمان، به یک ضرورت بالینی و اخلاقی مبدل شده است (۲). روش‌های معمول حفظ توانایی باروری مانند انجماد تخمک یا جنین در حال حاضر برای کمک به بیماران با نارسایی زودرس تخمدان کافی نیست و امکان استفاده از آن و به ویژه برای دختران نابالغ مبتلا به سرطان، وجود ندارد. از طرفی خطر بازگشت سلول‌های بدخیم در روش انجماد و پیوند بافت تخمدان نیز وجود دارد. در این شرایط، ایجاد تخمدان‌های مصنوعی با کمک روش‌های مهندسی بافت که ویژگی‌های تخمدان‌های طبیعی را بازسازی می‌کنند، دارای اهمیت بسیاری هستند. مهندسی بافت تخمدان یک سیستم سه بعدی به منظور کمک به رشد فولیکول و از سرگیری میوز تخمک و یک راهبرد جدید برای درمان از کار افتادگی تخمدان را پیش رو قرار می‌دهد (۳).

برای محقق شدن ایده‌ی ایجاد تخمدان مصنوعی، وجود یک داربست مناسب برای حمایت از سلول‌های سوماتیک تخمدان و مجموعه‌ی فولیکولی برای تولید تخمک بالغ و همچنین بهره‌گیری از عواملی که بتوانند به بهبود عملکرد تخمدان مصنوعی کمک کرده و تا حد زیادی آن را به نمونه طبیعی نزدیک‌تر نمایند، ضروری به نظر می‌رسد. تحقیقات مختلف استفاده از مایع فولیکولی و محیط کشت القایی سلول‌های کومولوسی را برای نیل به این هدف، مفید دانسته‌اند.

کلمات کلیدی: تخمدان مصنوعی، مهندسی بافت، مایع فولیکولی، محیط القایی سلول‌های کومولوسی

زهرا رضاسلطانی^{۲،۱}

فریده عیوضخانی^۱

سمیه توانا^۱

اشرف معینی^{۳،۴،۵}

فیروزه غفاری^۳

روح الله فتحی^{۱*}

^۱ پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و علوم پزشکی
تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل،
گروه جنین شناسی، تهران، ایران
^۲ کارشناسی ارشد فناوری سلول‌های بنیادی و بازسازی بافت،
دانشکده علوم و فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه علم و
فرهنگ، تهران، ایران

^۳ پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و علوم پزشکی
تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل،
گروه اندوکرینولوژی و ناباروری زنان، تهران، ایران
^۴ گروه زنان و زایمان، بیمارستان آرش، تهران، ایران
^۵ گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران،
ایران

Email: rfathi79@royaninstitute.org

مقدمه

تخمدان‌ها (غدد جنسی زنانه) به عنوان یکی از چهار اندام اصلی دستگاه تولید مثلی زنان فعالیت دارند (۴) که به واسطه‌ی آن‌ها تنظیم دقیق مراحل فولیکولوژنز^۱ و کنترل تولید هورمون‌های جنسی (استروژن^۲ و پروژسترون^۳) صورت می‌پذیرد. عملکرد حیاتی تخمدان‌ها باعث حمایت از واکنش دسیدوآبی در اندومتر، توانایی باروری، رشد پستان‌ها برای شیردهی و حتی سلامت استخوان‌ها (۵) می‌شود. بنابراین توجه به مبتلایان به سندرم تخمدان پلی کیستیک^۴، نارسایی زودرس تخمدان^۵، برخی بیماری‌های خود ایمنی و زنان مبتلا به سندرم ترنر^۶ که تمایل به حفظ باروری دارند و دچار اختلال در عملکرد تخمدان هستند، بسیاری از پژوهشگران را به چالش کشانده است. از طرفی، ناباروری مرتبط با درمان سرطان^۷ (CTRI) بیش از یک سوم از زنان جوان مبتلا به سرطان را با خطر تخلیه‌ی زودرس ذخیره تخمدان روبه‌رو می‌کند (۶). در این شرایط بحرانی، گزینه‌های متعددی برای حفظ توانایی باروری ارائه شده است؛ که از جمله آن‌ها به می‌توان به حفاظت پزشکی گنّاد، انجماد تخمک و یا جنین، انجماد بافت تخمدان و تلاش برای ایجاد تخمدان مصنوعی اشاره کرد (۷).

بیماران نابالغ مبتلا به سرطان و افراد درگیر با نارسایی زودرس تخمدان در حال حاضر قادر به استفاده از روش‌های معمول حفظ باروری مانند انجماد تخمک و جنین نیستند؛ اما انجماد بافت تخمدان به عنوان یک روش جایگزین به آنها پیشنهاد می‌شود که در این روش هم محدودیت‌هایی از جمله خطر بالقوه بازگشت مجدد سلول‌های بدخیم بعد از پیوند بافت، بیماران بهبود یافته از سرطان را تهدید می‌کند (۸). در چنین شرایطی استفاده از تخمدان مصنوعی مطرح می‌شود؛ اندامی که بتواند

عملکرد طبیعی تخمدان را بازسازی کرده و امید به باروری را برای فرد به ارمغان آورد.

برای دستیابی به تخمدان مصنوعی، توجه به ایجاد یک ساختار فیزیکی سه بعدی برای فولیکول‌های جدا سازی شده (۹-۱۲) و برخی ویژگی‌های زیستی مانند جمعیت سلولی برای رگزایی، ساخت یک ماتریکس خارج سلولی^۸ و ایجاد یک ساختار شبیه تخمدان (۱۳-۱۵) اهمیت ویژه‌ای دارد. این تخمدان مهندسی زیستی باید از اندام طبیعی تقلید کند و بنابراین به داربست مناسبی نیاز دارد تا نه تنها فولیکول‌های جدا شده، بلکه سلول‌های تخمدان را که برای بقا و رشد فولیکول‌ها مورد نیاز است، در خود جای دهد و محیطی شبیه به تخمدان طبیعی انسان را بازسازی کند (۲). بنابراین، خلاصه کردن خواص مکانیکی تخمدان طبیعی هنگام ایجاد یک داربست مناسب برای بقا و رشد فولیکول‌ها بسیار مهم است (۳).

در پژوهش‌هایی که در زمینه‌ی تخمدان مصنوعی و استفاده از سلول‌های استرومایی انجام می‌گیرد، معمولاً به سلول‌های گرانولوزا به دلیل اهمیت ویژه‌ی این سلول‌ها در حمایت از فولیکول‌ها اشاره می‌شود؛ هرچند که سلول‌های استرومایی جمعیت زیادی از سلول‌های قشر تخمدان را تشکیل می‌دهند (۱۶، ۱۷). در میان چندین نوع سلول موجود در تخمدان، سلول‌های بنیادی زایای ماده^۹ (FGSCs) یا سلول‌های بنیادی تخمدان^{۱۰} (OSCs) می‌توانند نمونه‌های امیدوارکننده‌ای جهت دستیابی به تخمک بالغ باشند. در واقع، هنگامی که این سلول‌ها تحت محرک‌های خاص قرار می‌گیرند، می‌توانند به سلول‌های بالغ تخمدان تمایز پیدا کنند (۱۸).

بررسی‌ها نشان داده‌اند که در کشت نمونه‌های انسانی، همراه با سلول‌های کومولوسی^{۱۱} (CCs) بلوغ تخمک افزایش می‌یابد (۱۹، ۲۰) و عوامل رشد مختلف و عوامل جنینی حمایت‌کننده

^۱ Folliculogenesis^۲ Estrogen^۳ Progesterone^۴ polycystic Ovary Syndrome^۵ Premature Ovarian Failure^۶ Turner Syndrome^۷ Cancer Treatment Related Infertility^۸ Extracellular Matrix^۹ Female Germline Stem Cells^{۱۰} Oogonial Stem cells^{۱۱} Cumulus Cells

مانند مواد مغذی، سوپستراها^۱ و سیتوکین‌ها^۲ در اختیار سلول‌ها قرار می‌گیرد و به دنبال آن، از طریق حذف مواد مضر (مانند فلزات سنگین، آمونیوم و رادیکال‌های آزاد، سم زدایی از محیط کشت صورت می‌گیرد و لانه‌گزینی جنین و میزان حاملگی را در چرخه‌های IVF بهبود می‌یابد (۲۱، ۲۲).

مایع فولیکولی (FF)^۳ یک مایع بیولوژیکی دینامیکی پیچیده است که تخمک در حال رشد را احاطه کرده است. این ماده در فولیکول‌های پره آنترال^۴ در حال رشد تولید می‌شود و شامل مولکول‌های مختلفی مانند پروتئین‌ها، هورمون‌های استروئیدی، پلی ساکاریدها^۵، متابولیت‌ها^۶، گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر و آنتی اکسیدان‌هاست. نقش اصلی این مولکول‌ها کنترل بلوغ تخمک و فولیکول‌ها و محافظت از سلول‌های فولیکولی در برابر آسیب‌های فیزیکی و اکسیداتیو است. آن‌ها همچنین مسئول ارتباط بین سلول‌های سوماتیک و سلول‌های زایایی هستند، که تخمک برای به دست آوردن شایستگی لقاح به آن‌ها نیاز دارد (۲۳-۲۵). ترکیبات پروتئینی و مولکولی مایع فولیکولی انسانی (HFF) در شرایط متفاوت تغییر می‌کند؛ در مادران با سنین بالا (۲۴)، هنگام تخمک گذاری و در برخی شرایط خاص پزشکی مانند سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) (۲۶)، اختلالات تولید مثلی از جمله اندومتریوز (۲۷)، سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) (۲۸) و در سقط خود به خودی مکرر (۲۹)، ترکیبات پروتئینی متفاوتی در HFF گزارش شده است که همگی بیانگر نقش ویژه و اهمیت، در مراحل مختلف رشد است.

محیط القایی سلول‌های کومولوسی^۷ (CCM)، نمونه‌ای دیگر از مکمل‌هایی است که با استفاده از آن، می‌توان نتایج ویژه‌ای را در فرآیند کشت سلول‌ها انتظار داشت (۲۵). فرایند فولیکولوژن

از مرحله‌ی بدوی^۸ به سمت مرحله‌ی لوتئال^۹ نیازمند تغییراتی در تمایز سلولی سلول‌های گرانولوزاست که تنظیم این تمایز در جمعیت‌های مختلف این سلول‌ها به فعالیت تعدادی از هورمون‌ها و فاکتورهای رشد وابسته است (۳۰). سلول‌های گرانولوزای حاشیه‌ای^{۱۰} (MGC) و سلول‌های کومولوسی در طول تشکیل حفره آنتروم فولیکولی از سلول‌های گرانولوزا (GCs) سرچشمه می‌گیرند اما بیان ۵۳ miRNA متفاوت برای آن‌ها شناسایی شده (۳۱) و عملکردهای ویژه‌ای برای هر دسته‌ی سلولی گزارش کرده‌اند. به عنوان مثال، تحقیقات نشان داده‌اند که محیط القایی سلول‌های گرانولوزا، از طریق تنظیم کاهشی مسیر PTEN^{۱۱} به عنوان مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌ی منفی^{۱۲} PI3K، می‌تواند موجب فعال شدن فولیکول‌های بدوی در شرایط آزمایشگاهی گردد (۳۲) و سلول‌های گرانولوزای سنگفرشی اطراف تخمک به تدریج به سلول‌های مکعبی تبدیل شده و نقش خود را با تولید و ترشح مواد مورد نیاز اساسی شامل انواع سایتوکاین‌ها^{۱۳} و فاکتورهای رشد ایفا می‌کنند. ترشحات سلول‌های گرانولوزا مانند Activin، Inhibin، فاکتورهای تمایزی رشد^{۱۴} و فیبرونکتین^{۱۵} می‌توانند سبب افزایش رشد و زنده‌مانی فولیکول‌های پره آنترال شوند (۳۳) در حالی که سلول‌های گرانولوزای حاشیه‌ای از طریق مسیرهای اتوکراین^{۱۶} و پاراکراین^{۱۷} از تخمک پشتیبانی می‌کنند (۳۴) و سلول‌های کومولوسی در حمایت از تغذیه و انتقال ماکرومولکول‌ها تخصص دارند (۳۵). سلول‌های کومولوسی، از نظر زیست‌شناختی نقش‌های ویژه‌ای در تولید تخمک‌هایی با قابلیت باروری در مراحل انتهایی رشد فولیکولی ایفا می‌کنند (۳۶-۳۸). حضور ۱۷۳ جزء از ۳۶۹ متابولیت موجود در محیط بلوغ فولیکول‌ها، در محیط القایی سلول‌های

^۸ Primordial stage

^۹ Luteal stage

^{۱۰} Mural Granulosa Cells

^{۱۱} Phosphatase and tensin homolog

^{۱۲} phosphoinositide 3-kinase

^{۱۳} Cytokines

^{۱۴} Growth Differential Factor

^{۱۵} Fibronectin

^{۱۶} Endocrine

^{۱۷} Paracrine

^۱ Substrates

^۲ Cytokines

^۳ Follicular fluid

^۴ Preantral follicles

^۵ Polysaccharides

^۶ Metabolites

^۷ Cumulus Cells Conditioned Medium

زایی و همچنین تاریخچه‌ی کشف این سلول‌ها در پستانداران اشاره و مطالعات مربوط به تاثیر سایر عوامل بر عملکرد تخمدان مصنوعی مثل مایع فولیکولی و محیط القایی سلول‌های کومولوسی مرور شده است.

انواع داربست

داربست‌ها الگویی برای بازسازی نواقص بافت و در عین حال تقویت اتصالات و تکثیر سلولی، تولید ماتریکس خارج سلولی، ترمیم عروق، اعصاب، ماهیچه‌ها، استخوان‌ها و غیره را فراهم می‌کنند. داربست‌ها مواد زیستی^۶ متخلخل، فیبری یا تراوای^۷ سه‌بعدی^۸ (3D) هستند که برای انتقال مایعات و گازهای بدن، ارتقای تعامل سلولی، زنده ماندن و رسوب ماتریکس خارج سلولی با حداقل التهاب و سمیت در حالی که با سرعت کنترل شده خاصی تجزیه می‌شود، طراحی شده‌اند (۴۷).

مواد زیستی را می‌توان به سه دسته‌ی اصلی طبقه بندی کرد:

- ۱- مواد زیستی طبیعی مانند وزیکول خارج سلولی^۹، کلاژن^{۱۰}، اسید هیالورونیک^{۱۱}، فیبرین^{۱۲} و غیره در موقعیت خوبی قرار دارند تا نقش مهمی در توسعه نسل بعدی برای بازایی عملکرد تخمدان ایفا کنند. آن‌ها از مواد طبیعی مشتق شده‌اند و به راحتی در دسترس هستند و زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری عالی دارند (۴۸).
- ۲- مواد زیستی مصنوعی از جمله پلی لاکتیک اسید^{۱۳} (PLA)، پلی گلیکولیک اسید^{۱۴} (PGA)، پلی کاپرولاکتون^{۱۵} (PCL)، پلی اتیلن گلیکول^{۱۶} (PEG) و غیره دارای خواص ویژه‌ای هستند که

کومولوسی، مشاهده شده است. تغییرات قابل توجهی در اجزای متابولومیک در محیط بلوغ و سلول‌های کومولوسی در طول بلوغ مشاهده شده است که با بیشترین تغییرات مربوط به متابولیسم اسید آمینه، کربوهیدرات و لیپید همراه بوده است (۳۹). این امر نشان می‌دهد، محیط کشت سلول‌های کومولوسی می‌تواند، ترکیبات ویژه‌ای برای الگوبرداری از فرآیندهای بلوغ را در محیط آزمایشگاه فراهم کند (۴۰).

از آنجایی که اجزای مایع فولیکولی^۱ (FF) و سلول‌های کومولوسی نقشی کلیدی در طول تولید تخمک بازی می‌کنند، در سال‌های اخیر، بسیاری از محققان از FF و محیط القایی سلول‌های کومولوسی^۲ (CCM) به عنوان القاکننده برای رسیدن به سلول‌های شبه تخمک^۳ (OLC) استفاده کرده‌اند (۴۱). به دنبال استفاده از این مکمل‌ها، تولید OLC از سلول‌های بنیادی و زایا در مطالعات متعددی گزارش شده است (۴۲-۴۶).

روش کار

در این مطالعه مروری روایی، از پایگاه‌های داده‌ی Google Scholar و Pub Med برای جمع آوری اطلاعات با استفاده از کلید واژه‌های مهندسی بافت، مهندسی بافت تخمدان، ماتریکس خارج سلولی^۴، ماتریکس خارج سلولی سلول زدایی شده^۵، سلول‌های کومولوسی، مایع فولیکولی، سلول‌های بنیادی تخمدان، سلول‌های استرومایی تخمدان، محیط القایی سلول‌های کومولوسی و تخمک زایی استفاده شده است. عمده‌ی مطالب از مطالعات ۷ سال گذشته استخراج و مطالعات غیر مرتبط و تکراری حذف شده است. ابتدا انواع داربست‌ها مورد بررسی قرار گرفته سپس از میان آن‌ها به ماتریکس خارج سلولی سلول زدایی شده و انواع روش‌های سلول زدایی پرداخته شده است. در ادامه موارد پژوهشی که منجر به حمایت از فولیکول‌ها در داربست زیستی شده به تفصیل مورد بررسی قرار گرفته که در این بین به نقش قابل توجه سلول‌های بنیادی تخمدان در تخمک

⁶ Biomaterials

⁷ Porous

⁸ Three-Dimensional

⁹ Extracellular Vesicle

¹⁰ Collagen

¹¹ Hyaluronic Acid

¹² Fibrin

¹³ Polylactic Acid

¹⁴ Polyglycolic Acid

¹⁵ Polycaprolactone

¹⁶ Polyethylene Glycol

¹ Follicular Fluid

² Cumulus Cells Conditioned Medium

³ Oocyte Like Cells

⁴ Extracellular Matrix

⁵ Decellularized Extracellular Matrix

بسیاری از فرآیندهای سلولی مانند رشد، مهاجرت، تمایز، بقا، هموستاز^۴ و ریخت‌زایی را تنظیم می‌کند (۵۳، ۵۴).

ECM توسط سلول‌های بافت همبند در تمامی اندام‌ها ترشح می‌شود و دارای ترکیبات منحصربه‌فرد و متغیری است که تأثیرات مهمی بر ریخت‌زایی، تمایز و هموستاز سلولی دارد. بنابراین، مواد مشتق شده از ECM، خاص بافت/اندام دارای ترکیبات متغیری از مولکول‌های زیستی با تأثیر ثابت شده بر خواص مکانیکی و بیوشیمیایی مواد هستند. این ویژگی‌ها یک محیط انحصاری و خاص را فراهم می‌کند که با منشاء بومی ECM مرتبط است (۵۵). در نتیجه داربست‌های مبتنی بر ECM به عنوان شبیه‌ترین داربست به بافت اصلی در نظر گرفته می‌شوند. با توسعه مهندسی بافت و پزشکی بازسازی، ماتریکس خارج سلولی سلول‌زدایی شده توجه زیادی را به خود جلب کرده است زیرا می‌تواند یک محیط طبیعی بیوشیمیایی را ایجاد کند؛ در دسترس است و عدم ایمنی زایی را در بافت میزبان فراهم می‌کند. علاوه بر این، مولکول‌های فعال زیستی مانند عوامل رشد و سیتوکین‌ها می‌توانند در ماتریکس سلول‌زدایی شده نگهداری شوند (۵۶).

ECM از مخلوط پیچیده‌ای از مولکول‌های زیستی ساختاری و عملکردی تشکیل شده است که در صورت استفاده از روش‌های مناسب، اکثراً می‌توانند پس از سلول‌زدایی و انحلال‌سازی حفظ شوند. پروتئین‌های محیط خارج سلولی شامل کلاژن‌ها، پروتئوگلیکان‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، عوامل ترشح شده، تنظیم‌کننده‌ها و پروتئین‌های مرتبط با ECM هستند (۵۷). ECM تخمدان ساختار فولیکول سه بعدی را حفظ می‌کند و نقش مهمی در فولیکولوژنز ایفا می‌کند، زیرا توانایی اتصال عوامل رشد، از جمله موارد موجود در فولیکول‌ها را دارد (۵۸). انواع مولکول‌ها در ماتریکس و همچنین برهمکنش‌های آن‌ها بر رفتارهای سلولی و سایر فرآیندهای زیستی تأثیر می‌گذارند. به عنوان مثال، گلیکوز آمینوگلیکان‌ها عوامل رشد را به

می‌توانند از موانع زیستی عبور کرده یا بافت‌ها را به طور غیر فعال هدف نمایند (۴۹)؛ از برخی مشکلات تحویل دارو که در گذشته به طور موثر قابل حل نبودند، از جمله غلبه بر مقاومت دارویی و نفوذ به موانع سلولی که دسترسی داروها را به اهداف مورد نظر آن‌ها محدود می‌کنند، اجتناب کنند (۵۰). اگرچه زیست‌سازگاری و تجزیه پذیری مواد زیستی مصنوعی تقریباً در همه موارد به خوبی ثابت شده است و نیز به سطوح ایمنی مشابهی با ترکیبات طبیعی رسیده‌اند، اما به دلیل تفاوت قابل توجه با بافت بومی، خطر سمیت و ایمنی زایی را برای میزبان به همراه دارند (۵۱).

۳- مواد زیستی مخلوط^۱ شامل مواد زیستی ترکیبی پروتئین-پلی ساکارید، مواد زیستی نانوکامپوزیت، اسفنج و غیره می‌باشند و اصطلاح مواد زیستی ترکیبی اساساً برای اشاره به انواع جدیدی از مواد است که با استفاده از دو یا چند پلیمر طبیعی یا مصنوعی در کنار هم ایجاد می‌شوند (۵۲).

تعداد زیادی داربست با معماری‌های ریز^۲ و درشت^۳ مختلف از مواد زیستی گوناگون در مطالعات گزارش شده است. طراحی یک داربست شامل الزامات مکانیکی (خواص سفتی و ارتجاعی)، فیزیکوشیمیایی (شیمی سطح، تخلخل، تجزیه زیستی) و زیستی (چسبندگی سلولی، عروق، سازگاری زیستی و غیره) و همچنین ملاحظات مربوط به گندزدایی و امکان سنجی تجاری است (۴۷). بافت‌ها و اندام‌ها حاوی ترکیبی از اجزای سلولی و غیر سلولی هستند که شبکه‌های سازمان یافته‌ای به نام ماتریکس خارج سلولی را تشکیل می‌دهند. ECM نه تنها یک داربست فیزیکی برای جانشانی سلول فراهم می‌کند، بلکه

⁴ Homeostasis

⁵ Proteoglycans

⁶ Glycoproteins

¹ Composite Biomaterials

² Micro

³ Macro

گیرنده‌های سلولی ارائه می‌کنند و در مقابل ماتریکس خارج سلولی پیام‌های شیمیایی و پاراکرین را آزاد می‌کند (۵۹).

استفاده از ECM سلول‌زدایی شده

ECM سلول‌زدایی شده مسئول پشتیبانی از شبکه پیچیده‌ای است که در آن بافت‌ها و سلول‌های مختلف سازماندهی می‌شوند؛ یک ساختار سه‌بعدی که در هموستاز و تعاملات و چسبندگی بین سلول‌ها/بافت‌ها و جایگاه ریزمحیطی آن‌ها شرکت می‌کند (۶۰). مطالعات نشان داده‌اند که dECM را می‌توان برای پیوند و کشت سلولی استفاده کرد زیرا ساختار سه بعدی و ترکیب بافت‌ها و اندام‌های اصلی را حفظ می‌کند و محیط بهتری را برای رشد و تکثیر سلولی فراهم می‌سازد (56). فرآیند حذف سلولی برای دستیابی به یک داربست عملکردی بسیار اهمیت دارد و روش‌های زیادی برای بهینه کردن آن انجام و بررسی شده است (۶۱).

انواع روش‌های سلول‌زدایی

به طور کلی سلول‌زدایی به حذف تمام اجزای سلولی از بافت اطلاق می‌گردد در حالی که ساختار ماتریکس خارج سلولی زیرین به عنوان داربست باقی می‌ماند (۵۶). روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی، به طور معمول برای حذف سلول‌ها استفاده می‌شوند (۶۲). روش‌های فیزیکی شامل استفاده از سیال فوق بحرانی یا شوک الکتریکی، فشار هیدرواستاتیک، الکتروپوراسیون و اولتراسوند است (۶۳).

روش‌های شیمیایی به سلول‌زدایی با مواد شیمیایی مانند شوینده‌های یونی و غیر یونی، اسید و باز، شوینده‌های زوئتریونیک و محلول‌های هیپوتونیک^۱ و هیپرتونیک^۲ اشاره دارد. شوینده‌هایی مانند کلاژناز^۳، دیسپاز^۴، تریپسین^۵، نوکلئازها^۶ و ترمولیزین^۷ در روش‌های زیستی استفاده می‌شوند.

علاوه بر این، ایزوپروپانول^۸، لاترونکولین^۹، B^۹، NaOH، و پریکارپ صابون نیز به عنوان شوینده برای سلول‌زدایی استفاده می‌شوند (۵۶).

معمولاً برای سلول‌زدایی و تهیه داربست‌های بدون سلول با حفظ یکپارچگی ساختاری ECM در کل اندام‌ها یا بافت‌ها از مواد شوینده استفاده می‌شود (۶۴). سلول‌زدایی تخمدان‌های انسان و گاو با استفاده از سدیم دودسیل سولفات (SDS) به عنوان یک شوینده یونی نمونه‌ای از این فرآیند است (۶۵). در مطالعه دیگری برای سلول‌زدایی از کل اندام، تخمدان‌های خوک^{۱۰} تحت چرخه‌ی ذوب و انجماد از دمای ۸۰- درجه سانتیگراد تا ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفته و از SDS، Triton X-100 ۱٪، ۲٪ deoxycholate و اتانول ۷۰٪ برای سلول‌زدایی و به دنبال آن پاکسازی بافتی استفاده شده است (۶۶).

Zheng و همکاران نیز از یک روش متفاوت دیگر برای حذف سلول‌ها استفاده کردند؛ آن‌ها از فیل متیل سولفونیل فلوراید (PMSF) برای مهار فعالیت پروتئاز و سپس از یک Tris بافر هیپوتونیک (pH 8.0) سدیم دودسیل سولفات (SDS)، PMSF، Triton X-100، محلول نوکلئاز و در نهایت پراستیک اسید استفاده کردند (۶۷). سلول‌زدایی کل اندام در مطالعات موشی نیز گزارش شده است. در این مطالعات روش هم زدن سریع^۱ و سه روش شیمیایی و آنزیمی متفاوت به کار رفته است (۶۸) (۶۹). سلول‌زدایی از قطعات بافت تخمدان در گونه‌های انسان، خوک، موش، گاو و گوسفند به انجام رسیده است (۶۱، ۶۴، ۷۰-۷۲) اما شواهد نشان می‌دهند که استفاده‌ی طولانی مدت از SDS می‌تواند به طور قابل توجهی ECM را تغییر دهد و تأثیرات مخربی بر روی ساختار آن از جمله کاهش پلی ساکاریدها و سایتوکین‌ها، سمیت سلولی، چسبندگی ضعیف، التهاب و ترموبوز ناشی از پیوند داشته باشد (۷۳-۷۵). عیوضخانی و همکاران نشان دادند که هیدروکسید سدیم (NaOH) می‌تواند

⁷ Thermolysin

⁸ Isopropanol

⁹ Iatrunclin B

¹⁰ Agitation

¹ Hypotonic

² Hypertonic

³ Collagenase

⁴ Dispace

⁵ Trypsin

⁶ Nuclease

به عنوان یک عامل بهینه برای سلول‌زدایی قطعات تخمدانی و بازسازی ساختارهای شبه فولیکولی استفاده شود (۷۶). در جدول ۱ به تعدادی از مطالعات شاخص در زمینه سلول‌زدایی اشاره شده است.

جدول ۱. مروری بر مطالعات شاخص در زمینه سلول‌زدایی بافت تخمدان

مطالعه	گونه	بافت کامل یا قطعات بافتی	مواد مورد استفاده	روش انجماد و ذوب	یافته‌ها
Laronda و همکاران (۶۵) 2015	انسان، گاو	قطعات بافتی	SDS	نگهداری قطعات بافتی در دمای -80°C پس از سلول‌زدایی.	سلول‌های تخمدان که روی داربست‌های سلول‌زدایی کاشته شده‌اند، استرادیول را در شرایط آزمایشگاهی تولید می‌کنند؛ همچنین پیوندداربست‌های سلول‌زدایی شده باعث شروع بلوغ در موش‌هایی می‌شود که تخمدان آن‌ها برداشته شده است.
Liu و همکاران (۷۰) 2016	خوک	قطعات بافتی	SDS, Triton X-100, DNase I	تخمندان‌ها پیش از برش به قطعات به ترتیب در دمای -80°C و 37°C سه بار در شروع سلول‌زدایی منجمد و ذوب شدند و در انتهای مراحل ۱۲ ساعت در دمای 37°C قرار گرفتند.	بافت‌های تخمدان سلول‌زدایی شده خوک برای سلول‌های تخمدان موش در شرایط آزمایشگاهی غیر سمی هستند.
Hassanpour و همکاران (۶۴) 2018	انسان	قطعات بافتی	SLE, DNase I	-	داربست مخصوص تخمدان انسان بر اساس پروتکل تیمار شده با SLE می‌تواند داربست ایده آلی باشد که برای بازسازی تخمدان استفاده می‌شود.
Alshaikh و همکاران (۶۹) 2019	موش	بافت کامل	SDS, SDC, Triton X100, DNase I	ذخیره در دمای -20°C قبل از استفاده و هم زدن سریع روی دور 100 rpm در دمای اتاق (چیزی راجع به ذوب ذکر نشده)	داربست‌های تخمدانی تولید شده با دودسیل سولفات سدیم حاوی مقادیر بسیار کمی از DNA بودند که ممکن است مزیتی برای فرار از پاسخ ایمنی مضر پس از پیوند باشد.
Pors و همکاران (۷۲) 2019	انسان	قطعات بافتی	SDS, DNase	انجماد آهسته: قطعات بافتی ۲۵ دقیقه در مجاورت ماده ضد یخ، سپس 2°C در دقیقه تا -9°C درجه سانتی‌گراد، ۵ دقیقه غوطه‌ور کردن در آب، سپس کاشت دستی برای القاء هسته کریستال یخ، 0.3°C در دقیقه تا 40°C ، سپس 10°C در دقیقه تا -140°C ، سپس انتقال به نیتروژن مایع در دمای -196°C .	بافت تخمدان سلول‌زدایی شده انسان توانایی حمایت از بقای فولیکول‌های انسانی و رشد فولیکول‌های موش را دارد.

ذوب طی سه مرحله هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه. ابتدا در آب °C ۳۷، سپس در محیط ذوب حاوی EG و ساکارز در دمای اتاق، و در آخر انتقال در یک لوله پلاستیکی ۵۰ میلی لیتری به PBS به مدت ۱۰ دقیقه. انجماد سریع در دو مرحله تعادلی و انجمادی با استفاده از DMSO، EG، HTC M، sucrose و HSA. انجماد در دمای °C ۸۰-، سپس غوطه ور شدن در SDS و NaOH به مدت سه ساعت برای بافت موشی و یک شب برای قطعات بافتی انسانی و گوسفندی. تخمدان‌های کامل در دمای °C ۸۰- به مدت حداقل ۲۴ ساعت منجمد شدند.	SDS, NaOH, RNase/DNase	موش: بافت کامل انسان، گوسفند، موش قطعات بافتی	Eivazkhani و همکاران (۷۶) 2019
تخمدان‌های سلول زدایی شده شکل و همگنی خود را بدون تغییر شکل حفظ کردند.	SDS, Triton X-100, Deoxycholate	بافت کامل	Pennarossa و همکاران (۷۷) 2020
داربست‌های مشتق از SDC زیست سازگار بودند و سلول زدایی شدن موثری را نشان دادند.	SDS, SDC, DNase I solution	بافت کامل	Alshaikh و همکاران (۶۸) 2020
در گروه سلول زدایی شده ریخت شناسی ECM به خوبی حفظ شده و حداقل سطح DNA را نشان داد.	SDS, Triton X100	انسان، گاو	Sistani و همکاران (۷۱) 2021
داربست ساخته شده از بافت‌های تخمدان سلول زدایی شده با استفاده از SDS-Triton-Amonium و سدیم آلژینات به عنوان یک بستر سه بعدی بالقوه برای کشت <i>in vitro</i> فولیکول‌ها برای حفظ باروری پیشنهاد می‌شود.	SDS-Triton-Ammonium	انسان، گاو	Nikniaz و همکاران (۷۸) 2021
فولیکول‌های تخمدانی که در تخمدان‌های سلول زدایی بالغ شده‌اند، همان رشد فولیکولی و سطوح بیان ژن بلوغ را نشان می‌دهند که در تخمدان طبیعی رشد می‌کنند.	SLE	موش صحرایی	Alaee و همکاران (۷۹) 2021

سلول‌زدایی کامل بافت و استفاده از آن به عنوان داربست و ترکیب این روش با بازسازی مجدد داربست‌های سلول‌زدایی شده با استفاده از FGSCs ابزاری قدرتمند برای بازآفرینی آزمایشگاهی یک تخمدان مهندسی زیستی است که ممکن است راه حلی امیدوارکننده برای بازایی عملکرد هورمونی و باروری باشد.	ذخیره اندام کامل در دمای ۸۰ °C - درجه سانتیگراد حداقل به مدت ۲۴ ساعت و ذوب آن در دمای ۳۷ °C در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه در شروع مراحل سلول-زدایی.	SDS, Triton X-100, Deoxycholate	بافت کامل	خوک	Pennarossa و همکاران (۸۰) 2021
داربست سلول‌زدایی شده مبتنی بر ماتریکس خارج سلولی ممکن است محل مناسبی برای کشت خارج از بدن سلول های تخمدان باشد.	ذخیره اندام کامل در دمای ۸۰ °C - حداقل به مدت ۲۴ ساعت و ذوب آن در دمای ۳۷ °C در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه در شروع مراحل سلول‌زدایی.	SDS, Triton X-100, Deoxycholate	بافت کامل	خوک	Pennarossa و همکاران (۶۶) 2021
چاپ زیستی سه بعدی تخمدان مبتنی بر ذخیره‌سازی تخمدان سلول‌زدایی شده یک رویکرد امیدوارکننده برای اصلاح نارسایی تخمدان است.	-	PMSF, SDS, Triton X-100, Deoxyribonuclease I, Ribonuclease A	قطعات بافتی	خوک	Zheng و همکاران (۶۷) 2022
پروتکل سلول‌زدایی پیشنهادی داربست های تخمدان کامل را با ترکیب ECM حفظ شده تولید کرد.	-	SDS, Triton X-100	بافت کامل	خوک	Almeida و همکاران (۸۱) 2023

SDS: sodium dodecyl sulfate

SDC: sodium deoxycholate

SLE: sodium lauryl ester sulfate

NaOH: sodium hydroxide

EG: ethylene glycol

HSA: human serum albumin

RNase/DNase: nuclease supplemented solution

انجماد آهسته: Slow freezing

انجماد سریع: Vitrification

هم زدن سریع: Agitated

سلول‌های بنیادی زایای جنس مونث: FGSCs: Female Germline Stem Cells

ماتریکس خارج سلولی سلول‌زدایی شده: dECM: Decellularized Extracellular Matrix

فنیل متیل سولفونیل فلوراید: PMSF: phenylmethylsulphonyl fluoride

حمایت از فولیکول‌ها در داربست زیستی

ایجاد یک تخمدان مصنوعی به عنوان ابزاری برای کمک به حفظ توانایی باروری و بهره‌مندی از حمایت غدد درون ریز از دیدگاه‌های زیستی و مهندسی به عنوان یک چالش مهم مطرح بوده است، زیرا رشد فولیکول‌ها به هماهنگی پیچیده‌ای از

پیام‌رسانی‌ها و علائم مکانیکی نیاز دارد که برخی از آن‌ها ممکن است از استرومای تخمدان ناشی شوند (۸۲). اندام‌ها از دو جزء تشکیل شده‌اند: پارانشیم یا بافت تخصصی که از سلول‌های عملکردی اندام تشکیل شده است و استروما، که معمولاً بافت پشتیبان است (۸۳). فولیکول‌های تخمدان، که

واحدهای عملکردی تخمدان هستند، قسمتی از پارانشیم تخمدان را تشکیل می‌دهند. در نتیجه استرومای تخمدان به اجزای تخمدان غیر از فولیکول‌ها اشاره دارد (۸۲). حمایت از فولیکول‌ها در داربست‌های زیستی توسط سه گروه سلول کنترل می‌شود:

۱- سلول‌های استرومایی

۲- سلول‌های اندوتلیال

۳- سلول‌های بنیادی

۱- سلول‌های استرومایی

سلول‌های استرومایی جمعیت غالب سلول‌ها را در قشر تخمدان انسان تشکیل می‌دهند. این امر بقا و رشد فولیکول را در یک تخمدان طبیعی تضمین می‌کند؛ سلول‌های استرومای تخمدان می‌توانند از رگ‌زایی پشتیبانی کنند و انتقال پیام که برای تکثیر و بلوغ فولیکول‌در تخمدان مصنوعی ضروری است را، تقویت نمایند (۱۶). بررسی‌ها نشان داده‌اند رشد اولیه فولیکول توسط تنظیم کننده‌های اتوکراین/پاراکراین تخمدان که توسط فولیکول‌ها و استرومای تخمدان ترشح می‌شود، کنترل شده و سلول‌های استرومایی عوامل مختلفی را آزاد می‌کنند که به طور مثبت انتقال فولیکول بدوی به اولیه^۱ را تنظیم می‌کند (۸۴).

سلول‌های استرومایی نقش ساختاری حمایتی ویژه ای برای رشد فولیکول‌ها ایفا می‌کنند و آندروستندیون^۲ و تستوسترون^۳ را برای تولید استروژن توسط سلول‌های گرانولوزا فراهم می‌کنند. ادغام سلول‌های استرومایی تخمدان در تخمدان مصنوعی می‌تواند ارتباط طبیعی بین فولیکول‌ها و سلول‌های استرومایی اطراف را دوباره برقرار کند و به طور بالقوه رشد فولیکول را افزایش دهد (۲). انواع مختلفی از سلول‌های استرومایی تخمدان در مطالعات ذکر شده است که از بین آن‌ها می‌توان به سلول‌های ایمنی، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های اپیتلیوم سطح تخمدان و همچنین سلول‌های بنیادی تخمدان اشاره کرد (۸۲). توزیع و نوع

سلول‌های استرومایی ممکن است با توجه موقعیت آن‌ها در نواحی قشری و یا مرکزی بافت تخمدان متفاوت باشد (۸۵). ناحیه قشری بافت تخمدان از یک چهارچوب بافتی تشکیل شده که مجموعه‌هایی از فولیکول‌های اولیه را در خود جای داده است؛ در زیر قشر، مدولا قرار دارد که از بافت همبند سست‌تر، عروق خونی، لنفاوی و اعصاب متراکم‌تر و فولیکول‌های در حال رشد بزرگتر تشکیل شده است. در حال حاضر گروهی از محققان در تلاش هستند تا موقعیت نسبی ساختارهای بدن^۴ را با ارجاع به ویژگی‌های بافت شناسی تعریف کنند و فهرست اصلاح‌شده‌ای از انواع سلول‌ها و ویژگی‌های خارج سلولی را ارائه کنند (۸۶). هرچند که این ساختارها از نظر رشد، ضخامت و ترکیب سلولی بر اساس وضعیت بلوغ، مرحله چرخه قاعدگی و سابقه پزشکی فرد متغیر است (۸۷).

۲- سلول‌های اندوتلیال

سلول‌های اندوتلیال جزئی از شبکه‌ی عروقی و لنفاوی بافت تخمدان هستند که در تعامل با پریشیت‌ها^۵ و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف^۶ از عملکردهای حیاتی تخمدان پشتیبانی می‌کنند (۸۲). بررسی پژوهشگران نشان داده است که جداسازی سلول‌های اندوتلیال از مدولای تخمدان، به همراه قطعات قشری بافت تخمدان، به طور قابل توجهی باعث افزایش سطح عروق پس از پیوند می‌شود (۱۴). همچنین پیوند همزمان سلول‌های استرومایی و اندوتلیال انسانی یک ساختار استرومایی کاملاً سازمان‌یافته و عروقی شده پس از یک هفته پیوند زونوگرافت در بورس تخمدان^۷ موش ایجاد می‌کند (۱۳)؛ بر این اساس برای رگ‌زایی بهتر، استخراج سلول‌های اندوتلیال از منبع مدولا نیز پیشنهاد می‌شود (۱۶).

هنگامی که سلول‌ها در داربست‌های سه بعدی جایگزین می‌شوند، باید ترغیب شوند تا ریخت شناسی معمولی *in vivo* را به دست آورند. این فرآیند مستلزم ایجاد شبکه‌های عصبی و

⁴ Subanatomy

⁵ Pericytes

⁶ Smooth Muscle Cells

⁷ Ovarian Bursa

¹ Primary

² Androstenedione

³ Testosterone

عروقی به هم پیوسته بین بافت بالغ و محیط پیرامون آن است. از یک طرف، طراحی داربست باید امکان بازسازی عروقی را با بالغ شدن بافت فراهم کند تا مواد مغذی، اکسیژن و سایر عوامل محلول بتوانند به تمام سلول‌های تعبیه شده برسند در حالی که ضایعات متابولیک به طور پیوسته حذف می‌شوند. از سوی دیگر، رشته‌های عصبی از نظر فضایی با سلول‌هایی مرتبط هستند که گیرنده‌های نوروپپتید^۱ را بیان می‌کنند و باید به طور همزمان با بافت جدید برای تنظیم هموستاز ایجاد شوند. معمولاً توزیع اعصاب محیطی و رگ‌های خونی در رشد بدن انسان به دنبال یکدیگر می‌آیند، زیرا از نظر آناتومیک جفت شده‌اند و بر رشد و تکامل یکدیگر تأثیر می‌گذارند (۸۸).

در رشد غدد جنسی موش، نورون‌های تاج عصبی^۲، تخمدان را کلونی می‌کنند؛ به نورون‌ها و سلول‌های گلیا^۳ متمایز می‌شوند و شبکه‌های عصبی متراکمی را در مدولا تشکیل می‌دهند که به سمت نواحی قشر تخمدان امتداد می‌یابند (۸۹). از نظر عملکردی، هم عصب دهی سمپاتیک و هم پاراسمپاتیک تخمدان نشان داده شده است و مشخص شده که تنظیم توسط سیستم عصبی سمپاتیک باعث مهار ترشح استرادیول و انقباض عروق می‌شود (۹۰). با تمام این ملاحظات به نظر می‌رسد که وجود انواع سلول‌های استرومایی در تخمدان مصنوعی برای به دست آوردن بهترین عملکرد بسیار مناسب است.

۳- سلول‌های بنیادی

از بین سلول‌های موجود در تخمدان، سلول‌های بنیادی زایای ماده (FGSCs) یا سلول‌های بنیادی تخمدان^۴ (OSCs) مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند. وجود این سلول‌ها ابتدا در سال ۲۰۰۴ توسط دکتر Jonathan Tilly و همکاران مطرح شد (۹۱). این فرضیه مورد بحث و تبادل نظر بود تا اینکه یک گروه تحقیقاتی در سال ۲۰۲۰ آن را به شدت مورد انتقاد قرار داد (۹۲). Wagner و همکارانش اعتقاد داشتند که سلول‌های

شناسایی شده با نشانگر *DDX4* که به عنوان سلول‌های بنیادی تخمدان در نظر گرفته شده‌اند، در واقع سلول‌های اطراف عروقی^۵ هستند و نه سلول‌های بنیادی. این مطالعه‌ی بحث برانگیز توسط چندین گروه تحقیقاتی از جمله گروه دکتر Tilly پاسخ داده شد (۹۳-۹۵). اکنون وجود این سلول‌ها با شواهد ارائه شده توسط محققان مختلف در سراسر دنیا و مطالعات انجام شده که منجر به تولید مجدد تخمک^۶ از این سلول‌ها شده‌اند، بدیهی به نظر می‌رسد (۹۶، ۶).

در پژوهش‌های مختلف از نشانگرهای *VASA*، *DAZL*^۷ یا همان *DDX4*^۸، *FRAGILIS*، *KIT*^۹ و *LHX8*^{۱۰} برای شناسایی سلول‌های زایا (۴۳، ۴۵، ۹۷) و از *OOSP2*^{۱۱}، *FIGLA*^{۱۲}، *GDF9*^{۱۳}، *ZP3*^{۱۴} برای شناسایی سلول‌های شبه تخمک استفاده شده است (۹۳، ۴۵).

میرزائی‌ان و همکاران موفق شدند OSC های نشاندار شده با GFP^{۱۵} را از تخمدان موش‌های تراریخته^{۱۶} با روش چسبندگی افتراقی^{۱۷} جدا کرده و در بافت تخمدان سلول زدایی شده‌ی انسان جایگزین کنند و پس از پیوند این قطعات بافتی به ناحیه‌ی زیر صفاقی^{۱۸} موش‌های ^{۱۹}NMRI فاقد تخمدان، ساختارهای شبه فولیکولی^{۲۰} را مشاهده کنند (۹۸). در این مطالعه سلول‌های بنیادی مزانشیمی صفاق^{۲۱} (PMSCs) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان^{۲۲} (BMSCs) در گروه‌هایی جداگانه و

⁵ Perivascular Cells

⁶ Neo-Oogenesis

⁷ Deleted in Azoospermia Like

⁸ Dead Box Polypeptide 4

⁹ kit Oncogene

¹⁰ LIM Homeobox Protein 8

¹¹ Oocyte Secreted Protein 2

¹² Factor in The Germline Alpha

¹³ Growth Differentiation Factor 9

¹⁴ Zona Pellucida 3

¹⁵ Green Fluorescent Protein

¹⁶ Transgenic

¹⁷ Differential Adhesion

¹⁸ Sub-Peritoneum Region

¹⁹ Naval Medical Research Institute

²⁰ Follicle-Like Structures

²¹ Peritoneal Mesenchymal Stem Cells

²² Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

¹ Neuropeptide

² Neural Crest Neurons

³ Glia Cells

⁴ Oogonial Stem Cells/ Female Germline Stem Cells

همچنین همراه با سلول‌های بنیادی اووگونی به دنبال پیوند بررسی شدند. در تمامی گروه‌ها بیان پروتئین‌های GFP, PCNA¹, VEGF², GDF9, ZP3, DDX4 ایمونوهیستوشیمی مشاهده گردید. بنابراین آن‌ها نتیجه گرفتند که سلول‌های بنیادی اووگونی می‌توانند نقش مهمی در بقا، عملکرد تخمدان و به دنبال آن حفظ توانایی باروری داشته باشند (۹۶).

تحقیقات Guo و همکارانش با استفاده از مدل‌های ژنتیکی موش، اطلاعات جامع‌تری را در مورد سرنوشت OSC و اووژنز در زنان بالغ، ارائه کرد و آن‌ها وقوع میوز در سلول‌های زایا را به عنوان فرآیند رایج تولید مجدد تخمک در طول دوران باروری تأیید کردند (۹۹, ۱۰۰). عملکرد OSC ها در تخمدان پستانداران بالغ نشان دهنده‌ی توانایی این سلول‌ها برای تمایز به سلول‌های شبه تخمک (OLCs) بوده و در نهایت منجر به تغییر نظریه "ذخیره‌ی ثابت تخمدان"^۳ می‌شود (۱۰۱).

در مطالعه‌ی انجام شده توسط خالقی و همکاران بر روی سلول‌های زنده از بافت‌های قشری تخمدان منجمد شده‌ی زنان تحت شیمی درمانی مبتلا به نارسایی زودرس تخمدان، علاوه بر سلول‌های استرومایی و گرانولوزا، وجود سلول‌های بنیادی تخمدان نیز مورد بررسی قرار گرفت و از مارکر پرتوانی OCT-4^۴ برای تشخیص این سلول‌ها استفاده و پیشنهاد شد که یک روش موثرتر برای درمان ناباروری زنان ممکن است از طریق تولید مجدد تخمک با درک بهتر تخمدان مصنوعی و جداسازی سلول‌های تخمدان (به ویژه OSCs) که با داربست‌های تقلیدکننده‌ی زیستی قابل کاشت پیوند می‌شوند، ایجاد شود (۱۷). در این راستا، محققان دیگر شواهد بیشتری از تولید تخمک پس از تولد، یعنی نئوژنز، در پستانداران و به طور خاص در انسان با جداسازی سلول‌های بنیادی تخمدان (OSCs)، به‌عنوان سلول‌های زایای مسئول تداوم بازسازی تخمک ارائه کردند (۶, ۱۰۲).

به علاوه، زنده ماندن OSC ها برای بلوغ تخمک با برچسب گذاری^۵ این سلول‌ها در موش با یک گزارشگر فلورسنت^۶ برای بررسی ردیابی سرنوشت سلولی نشان داده شد و پس از پیوند به تخمدان موش‌های ماده‌ی بالغ، OSC ها به تخمک‌های بالغی که ظاهراً آماده لقاح بودند، تمایز یافتند (۹۹). اخیراً، پیوند مستقیم سلول‌های بنیادی به تخمدان، رشد فولیکول‌های آنترال^۷ را افزایش داده و میزان موفقیت روش‌های لقاح آزمایشگاهی^۸ (IVF) را در افرادی که پاسخ‌دهنده ضعیف هستند، بهبود بخشیده (۱۰۳) و حتی امکان تولد یک نوزاد سالم از یک زن ۴۵ ساله با نارسایی زودرس تخمدان تأیید شده را فراهم کرده است (۱۰۴). همچنین در مطالعات قبلی نیز پس از هضم قشر تخمدان و مرتب‌سازی سلول‌ها، سلول‌های بنیادی موش و انسان در شرایط آزمایشگاهی کشت داده شدند و به‌طور خودبه‌خود تخمک‌های ۵۰-۳۵ میکرومتری تولید کردند. تزریق این سلول‌ها به قشر تخمدان انسان یا نئوس منجر به تشکیل فولیکول‌ها پس از پیوند زئوگرافت شد (۱۰۵).

این یافته‌ها ما را به این سمت سوق می‌دهد که رابطه نزدیکی بین حضور سلول‌های بنیادی در تخمدان غیرفعال و برقراری مجدد باروری در انسان و موش وجود دارد (۱۰۶). بنابراین استفاده از OSC ها برای القای تولید مجدد تخمک در برنامه‌های حفظ باروری^۹ و به‌ویژه در CTRI بسیار مورد توجه است زیرا استفاده‌ی بالقوه‌ی این سلول‌ها برای القای تولید مجدد تخمک از خطر انکوژن^{۱۰} اضافی مرتبط با القای فولیکولوزن جلوگیری می‌کند؛ در واقع، از آنجایی که نمونه برداری از قشر تخمدان و انجماد، قبل از درمان‌های گنادوتوکسیک عملی است، به کارگیری OSC ها از قطعات یخ زدایی شده می‌تواند فرصت جدیدی برای تأیید مناسب بودن آن‌ها برای گسترش در شرایط آزمایشگاهی به عنوان سلول‌های شبه تخمک (OLCs) فراهم کند (۶).

⁵ Labeling⁶ Fluorescent Reporter⁷ Antral follicles⁸ In Vitro Fertilization⁹ Fertility preservation¹⁰ Oncogene¹ Proliferating Cell Nuclear Antigen² Vascular Endothelial Growth Factor³ Fixed Ovarian Pool⁴ Octamer-Binding Transcription Factor 4

برای رشد تخمک هستند (۴۱). همچنین هر دو سلول کومولوسی (CCs) و مایع فولیکولی (FF) عوامل تعیین کننده برای کیفیت تخمک هستند (۱۱۱). یک محیط داخل فولیکولی سالم تا حد زیادی از طریق مشارکت هماهنگ سلول‌های کومولوسی (CCs) و مایع فولیکولی (FF) از کسب شایستگی رشد در تخمک‌ها پشتیبانی می‌کند (۲۴، ۱۱۱، ۱۱۲).

مایع فولیکولی

مایع فولیکولی شامل بیومارکرهای استرس اکسیداتیو، لیپیدها، آمینو اسیدها، گلوکز و مشتقات آن، اسیدهای استروئیدی، گنادوتروفین‌ها^۵، استروئیدها و سایر هورمون‌ها و اینترلوکین‌ها^۶ هستند (۱۱۳). تجزیه و تحلیل کامل پروتئومی مایع فولیکولی از فولیکول‌های کوچک آنترال، بیش از ۲۰۰۰ پروتئین مختلف را شناسایی کرده است (۱۱۴). همچنین ذکر شده مایع فولیکولی حاوی بیش از ۸۰۰ عامل است که به طور بالقوه در رشد و توسعه تخمک نقش دارند (۱۱۵). اجزای FF ممکن است مستقیماً توسط مسیرهای پیام رسانی هورمونی، پاراکرین و اتوکرین دچار تغییر شوند و ممکن است به طور غیرمستقیم توسط شرایط سیستمیک نیز تغییر کنند (۱۱۶-۱۲۰). ترکیب FF ممکن است متأثر از سن نیز باشد (۱۲۱). مایع فولیکولی (FF) به عنوان یک ریزمحیط پیچیده برای ارتباط سلول زایا-سلول سوماتیک عمل می‌کند. این مایع متابولیت‌های^۷ مختلفی را در بر می‌گیرد و باعث انجام واکنش‌های مختلفی می‌شود که برای رشد تخمک بسیار مهم هستند (۱۲۲). FF از انتشار سرم، ترانسودات^۸ پلازما و متابولیت‌های ساخته شده در دیواره فولیکول که بعداً توسط سلول‌های گرانولوزا^۹ (GCs) و سلول‌های تکا^{۱۰} تغییر می‌کنند، به دست می‌آید (۱۱۳). این ماتریکس زیستی تنها ماتریکسی است که مستقیماً با تخمک در ارتباط است زیرا در آن رشد و تمایز به صورت *in vivo* رخ

در کنار تحقیقات بر روی OSC ها، گروه‌های دیگری بر روی سلول‌های بنیادی شبه جنینی بسیار کوچک^۱ (VSELs) متمرکز شده‌اند (۱۰۷-۱۰۹). VSEL ها سلول‌های بنیادی پرتوان مشتق از اپی بلاست^۲ و مربوط به سلول‌های زایای اولیه هستند که تعداد بسیار کمی از آن‌ها در غدد جنسی بالغ باقی می‌ماند (۱۰۹)؛ در حالی که OSC ها به عنوان پیش سازهای بافتی با اندازه‌ی بزرگتر و بیان ژن متفاوت با توجه به VSEL های پرتوان ظاهر می‌شوند (۹۷، ۱۱۰). همچنین نشان داده شده است که VSEL های واقع در اپیتلیوم سطحی تخمدان^۳ (OSE) به طور طبیعی به ساختارهای تخمک مانند متمایز می‌شوند (۱۰۸).

یک گروه تحقیقاتی از تخمدان سلول زدایی شده‌ی خوک، داربستی زیستی را تولید کردند که ریزمعماری و پیام‌های زیستی را در بافت طبیعی تخمدان تقلید می‌کند و سلول‌های تخمدان بالغ تمایز یافته‌ی مشتق شده از سلول‌های بنیادی زایای ماده روی این داربست‌ها مجدداً جمعیت تشکیل دادند (۸۰). امکان جداسازی OSC های زنده تا ۹۵٪ از قشر تخمدان منجمد، درصدی مشابه نمونه‌های تازه، همچنین نشان می‌دهد که این جمعیت سلولی ظاهراً در برابر تنش دمایی برای انجماد و ذوب مقاوم است، بنابراین زنده‌مانی عالی و شاید توانایی تولید تخمک‌های بالغ و قابل لقاح آن را در شرایط آزمایشگاهی حفظ می‌کند (۶).

عوامل موثر بر عملکرد تخمدان مصنوعی

یک فرضیه دیگر برای بهبود ظرفیت تمایز آزمایشگاهی OSC ها به تخمک‌های بالغ مربوط به نقش مکمل سلول‌های کومولوسی و همچنین ارزیابی کامل اجزای مایع فولیکولی است که در داخل بدن کارآمدترین فعالیت را برای ایجاد بلوغ تخمک انجام می‌دهند و چندین پروژه در این حوزه در حال پیشرفت هستند (۱۱۱). مایع فولیکولی انسانی^۴ (FF) و محیط کشت القایی سلول‌های کومولوسی (CCM) منابع طبیعی غنی

⁵ Gonadotrophin

⁶ Interleukins

⁷ Metabolite

⁸ Transudate

⁹ Granulosa Cells

¹⁰ Theca Cells

¹ Very Small Embryonic Stem Cells

² Epiblast

³ Ovarian Surface Epithelium

⁴ Human Follicular Fluid

می‌دهد. این محیط شامل انواع مولکول‌های فعال زیستی است که از نظر کمیت و کیفیت در طول رشد فولیکول تغییر می‌کنند و همچنین تغییرات خاصی در ریزمحیط فولیکولی که منجر به بلوغ و رشد فولیکول و تخمک می‌شود.

ساخت زیستی و انتقال این متابولیت‌ها برای واکنش‌های متابولیکی متعدد ضروری است. آن‌ها میوز را تنظیم می‌کنند، در ساخت هورمون‌های استروئیدی و گلیکوپروتئین‌ها توسط فولیکول غالب نقش دارند و بلوغ و رشد فولیکول و تخمک، لقاح و لانه‌گزینی را افزایش می‌دهند (۱۲۳-۱۲۵). FF حاوی گونه‌های اکسیژن فعال^۱ (ROS) و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است که این ROS طول فرآیند تخمک‌گذاری تولید می‌شود. تحت شرایط فیزیولوژیکی، سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی از تولید ROS جلوگیری کرده و رادیکال‌های آزاد موجود را از بین می‌برند (۱۱۳). سیستم آنتی اکسیدانی FF شامل سوپراکسید دیسموتاز^۲ (SOD)، کاتالاز^۳ (CAT)، گلوکاتایون^۴ (GSH)، و گلوکاتایون ردوکتاز^۵ (GR) است (۱۲۶، ۱۲۷). چندین مطالعه نشان داده‌اند که ROS مایع فولیکولی در پیری تخمدان و در نتیجه کیفیت تخمک نقش دارد (۱۲۸-۱۳۳). FF ریزمحیط تخمک در حال رشد را تشکیل می‌دهد و بهترین محیط برای ارزیابی علائم استرس اکسیداتیو^۶ (OS) است (۱۳۴).

ترکیب FF شامل لیپیدهای متنوعی است و تاکنون تحقیقات زیادی روی انواع این لیپیدها و به ویژه تغییرات سطوح آن‌ها در بیماری‌هایی مانند هیپرآندروژنمی^۷، چاقی، مقاومت به انسولین^۸ (IR) و PCOS صورت گرفته است (۱۱۳). به عنوان مثال اسیدهای چرب آزاد در نتیجه متابولیسم غیر طبیعی لیپیدها تولید می‌شوند و با تعدیل بیان ژن، بر رشد، تمایز و متابولیسم سلول تأثیر می‌گذارند. ترکیب اسیدهای چرب در تخمک و غلظت

آن‌ها در محیط اطراف ممکن است بر توانایی رشد تخمک و لانه‌گزینی بعدی جنین در پستانداران تأثیر بگذارد (۱۳۵). اسفنگولیپیدها از اجزای ساختاری غشای سلولی هستند که می‌توانند به عنوان مولکول‌های پیام رسان رده دوم یا تنظیم‌کننده‌های پاراکرین رونویسی ژنتیکی عمل کنند. این مولکول‌ها همچنین دارای ظرفیت تنظیم رشد سلولی، تکثیر، متاستاز^۹، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول^{۱۰}، پیری، پاسخ‌های ایمنی، و مقاومت شیمیایی/ رادیویی هستند (۱۳۶-۱۳۸). کاهش این ترکیبات در FF بیماران PCOS ممکن است نشان دهنده تغییرات در روند صحیح استروئیدوژنز باشد (۱۳۷). همچنین^{۱۱} PGE₂، یک واسطه اتوکراین و پاراکراین است که ترشح هورمون آزاد‌کننده هورمون لوتئینیزه‌کننده^{۱۲} (LHRH) را افزایش می‌دهد؛ بر بلوغ تخمک، گسترش سلول‌های کومولوسی و جفت شدن کومولوس-تخمک تأثیر می‌گذارد و هنگامی که در غلظت‌های بالا وجود داشته باشد، ممکن است مضر باشد و بلوغ فولیکول را به تأخیر بیندازد (۱۳۹).

در یک مطالعه سنجش لیزوفسفاتیديل کولین^{۱۳} LPC در FF و سرم خون انسان نشان داد که LPC کل، در هر دو نوع نمونه ارتباط نزدیکی با پارامترهای تحریک تخمدان دارد، که نشان می‌دهد LPC می‌تواند به عنوان یک نماینده از شاخص واکنش پذیری تخمدان، اطلاعات جدیدی را در مورد متابولیت‌های مرتبط با شاخص‌های بالینی تولید مثل در FF ارائه دهد (۱۴۰). یکی از آمینو اسیدهای مهم در مایع فولیکولی، فنیل آلانین^{۱۴} است که متابولیسم آن برای رشد و تکامل تخمک اهمیت زیادی دارد و با اختلال تخمک‌گذاری در زنان نیز مرتبط است (۱۴۱، ۱۴۲). چندین گروه ترکیب پروتئین FF انسانی را با روش‌های مختلف مطالعه کرده‌اند (۱۴۳). یک مطالعه FF قبل از تحریک هورمون گنادوتروپین جفتی انسانی^{۱۵} (hCG) را با

⁹ Metastasis¹⁰ Apoptosis¹¹ Prostaglandin E2¹² Luteinizing Hormone-Releasing Hormone¹³ Lysophosphatidylcholine¹⁴ Phenylalanine¹⁵ Human Chorionic Gonadotropin¹ Reactive Oxygen Species² Superoxide Dismutase³ Catalase⁴ Glutathione⁵ Glutathione Reductase⁶ Oxidative Stress⁷ Hyperandrogenemia⁸ Insulin-Resistance

نمونه‌های FF بعد از تحریک hCG در زنان مطابق با سن و تحریک آن‌ها مقایسه کرد و ۱۷ پروتئین را شناسایی کرد که به طور قابل توجهی در طول تخمک‌گذاری تغییر کردند (۱۴۴). این پروتئین‌ها نماینده مسیرهای پیام‌رسانی پاراکرینی هستند که در داخل فولیکول مانند مهار پروتئاز و التهاب عمل می‌کنند (۱۴۵). پرکاربردترین ترکیباتی که تخمک برای تولید انرژی استفاده می‌کند، لاکتات^۱ و پیرووات^۲ است (۱۴۶). از آنجایی که تخمک قادر به انجام گلیکولیز^۳ نیست، وجود GC ها و CC ها برای ارائه‌ی این محصولات به تخمک ضروری به نظر می‌رسد (۱۴۷، ۱۱۳). همچنین پیوند قوی بین گلوکز، پیرووات و لاکتات تأیید می‌کند که FF لاکتات و پیرووات را به تخمک در حال رشد به عنوان منبع انرژی می‌دهد (۱۴۸).

FF انسانی سطوح بالایی از اسیدهای صفراوی، تقریباً دو برابر سرم، و اسید اورسودوکسی کولیک^۴، اسید صفراوی ثانویه را ارائه می‌کند که در نتیجه جنین‌هایی با کیفیت بالا تولید می‌شود. برخی تحقیقات نشان داده‌اند که تنظیم انتقال اسید صفراوی از خون به FF ممکن است بر سیستم تولید مثل تأثیر بگذارد (۱۴۹). استروئیدهای فعال زیستی موجود در FF نقش حیاتی در تنظیم فولیکولوژن تخمدان و بلوغ تخمک دارند. تغییرات در سطوح آندروژن (تستوسترون، دی هیدروتستوسترون^۵، استروژن، استرون) یا سطوح پروژسترون ممکن است تشکیل تخمک‌های سالم و همچنین توقف میوزی آن‌ها را به خطر بیندازد (۱۴۹، ۱۵۰).

غلظت هورمون در FF می‌تواند به طور مستقیم (از طریق اعمال ژنومی و غیر ژنومی) و غیر مستقیم (از طریق سلول‌های سوماتیک در فولیکول) بر تمایز تخمک تأثیر بگذارد (۱۵۱). عامل مهارکننده لوسمی^۶ (LIF) یک گلیکوپروتئین ترشحی از خانواده IL-6 است که قادر است به صورت محلی توسط تخمدان یا ماکروفاژها و در GC های موجود در FF زنان تولید

شود (۱۵۲). این اینترلوکین می‌تواند تمایز را مهار کرده و تکثیر سلول‌های بنیادی جنینی^۷ را حفظ کند، همچنین قادر است که در رشد فولیکولی، بلوغ تخمک‌ها، لانه‌گزینی، رشد و تمایز جنین اختلال ایجاد کند و با ناباروری و سقط مکرر مرتبط است (۱۵۳).

در سال‌های اخیر استفاده از سلول‌های بنیادی برای تولید سلول‌های زاینده به عنوان راه‌حلی برای مشکلات ناباروری مورد توجه قرار گرفته است (۴۱). FF می‌تواند نقش مهمی در ایجاد محیط مناسب برای سلول‌های زایای اولیه^۸ (PGCs) داشته باشد تا به تخمک‌های عملکردی تبدیل شوند (۱۵۴). FF حاوی عوامل ارزشمندی است که به طور قابل توجهی به تولید آزمایشگاهی گامت^۹ (IVG) و رشد فولیکول‌ها در بافت تخمدان انسان کمک می‌کند و می‌تواند به عنوان یک ابزار اضافی در بازبانی باروری به صورت شخصی سازی شده قبل از پیوند مجدد بافت تخمدان در نظر گرفته شود (۱۱۵).

مایع فولیکولی و سلول‌های کومولوسی مستقیماً به کیفیت تخمک کمک می‌کنند و با هم یک کنام را تشکیل می‌دهند که از گامت در برابر شرایط بیماری موضعی یا سیستمیک که توانایی به خطر انداختن ظرفیت رشد آن را دارد، محافظت می‌کند. برای مثال، تغییرات در وضعیت فیزیوشیمیایی و سلولی FF برای ایجاد یک سری رویدادهای پایین‌دستی پیشنهاد می‌شود که ممکن است به عدم تعادل تولید استروئید، مهار لوتئینه شدن و اختلال در رابطه‌ی همزیستی تخمک-کومولوس که کیفیت تخمک را تعیین می‌کند، کمک نماید (۱۱۱).

سلول‌های کومولوسی

سلول‌های کومولوسی گروهی از سلول‌های مرتبط با گرانولوزا هستند که تخمک‌ها را احاطه کرده و تغذیه می‌کنند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سلول‌های کومولوسی به بلوغ و لقاح تخمک کمک می‌کنند (۱۵۵). سلول‌های کومولوسی ممکن است برخی عوامل که نقش مهمی در فرآیند تولید تخمک و

¹ Lactate

² Pyruvate

³ Glycolysis

⁴ Ursodeoxycholic acid

⁵ Dihydrotestosterone

⁶ Leukemia Inhibitory Factor

⁷ Embryonic Stem Cells

⁸ Primordial Germ Cells

⁹ In Vitro Gametogenesis

تمایز سلول‌های زایای اولیه (PGCs) دارند را ترشح کنند (۴۳). برخی از اجزای موثر در مایع فولیکولی مانند عامل رشد اندوتلیال عروقی^۱ (VEGF)، اینترلوکین (IL)، عامل رشد اپیدرمی^۲ (EGF)، عامل رشد تبدیل کننده بتا^۳ (TGF) و بتاسولین^۴ (BTC) با ترشحات سلول‌های کومولوسی مرتبط هستند (۱۵۶).

سلول‌های کومولوسی به عنوان سلول‌های پرستار تخمک، ریزمحیط مناسبی با عوامل رشد و برهمکنش‌های سلولی مورد نیاز برای بلوغ تخمک فراهم می‌کنند. بنابراین، این سلول‌ها ممکن است به عنوان یک کنام طبیعی برای مطالعات آزمایشگاهی رشد سلول‌های زایای ماده عمل کنند (۱۵۷). در فولیکول‌های آنترال، CC ها به حمایت متابولیک و حفظ توقف میوز در تخمک در حال رشد کمک می‌کند (۱۵۸-۱۶۰). کشت آزمایشگاهی تخمک‌های برهنه شده باعث ایجاد ناهنجاری‌هایی در بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی می‌شود، اما زمانی که تخمک‌های برهنه شده با CC ها کشت شوند، از این تغییرات جلوگیری می‌شود (۱۶۱). در همان زمان، برخی از عوامل ترشح شده تخمک، واسطه متابولیسم، بلوغ و بقای CC ها می‌شوند (۱۶۲). تعاملات بین سلولی از طریق دو مکانیسم اصلی رخ می‌دهد: اتصالات شکافدار و پیام‌های پاراکرین (۱۶۰).

این اتصالات شکافدار، انتقال مولکول‌های کوچک را از CC ها به تخمک امکان پذیر می‌کند. مولکول‌های کوچک مربوطه شامل یون‌ها، نوکلئوتیدهای حلقوی^۵ (cAMP، cGMP)، متابولیت‌ها، اسیدهای آمینه و رونوشت‌های RNA هستند که همگی به میوز، تولید ATP و تعادل pH در تخمک کمک می‌کنند (۱۶۰، ۱۶۳). این ارتباط همچنین برای تمایز CC ها مهم است (۱۶۴). پیام دهی پاراکرین داخل فولیکولی در سرتاسر اووژنز فعال است و نقش مهمی در طول رشد و بلوغ فولیکولی ایفا می‌کند (۱۵۸). پیام دهی پاراکرین که از CC ها به تخمک

حرکت می‌کند، از شروع مجدد میوز پشتیبانی می‌کند، بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی را ممکن می‌کند و فعالیت رونویسی را کنترل می‌نماید (۱۶۰، ۱۶۵).

از آنجا که تخمک و CC ها از نظر متابولیسم به یکدیگر شباهت دارند، هرگونه تغییر متابولیک در سلول‌های فولیکولی نیز ممکن است بر رشد تخمک تأثیر بگذارد (۱۶۶). CC ها نقش محافظتی ایفا می‌کنند که به طور حیاتی صلاحیت تخمک را تضمین می‌کند و بنابراین ممکن است به عنوان پل و مانع بین تخمک و ریز محیط فولیکولی اضافی در نظر گرفته شوند (۱۶۷). CC ها از تخمک در برابر متابولیت‌های سمی محافظت کرده و بنابراین یک عملکرد متابولیکی مهم در محافظت از توانایی رشد تخمک ایفا می‌کنند (۱۶۸).

فراتر از حفاظت متابولیک، CC ها همچنین به دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی کمک کرده که از تخمک در برابر ROS (۱۶۹) و آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو (۱۷۰) محافظت می‌کند. اعتقاد بر این است که با افزایش سن، افزایش تولید گونه‌های فعال و دفاع آنتی اکسیدانی نامناسب ممکن است عملکرد CC ها و تخمک‌ها را با ایجاد تغییرات میتوکندری، کاهش تولید ATP، تأثیر بر دوک میوز، و ترویج بی‌ثباتی ژنومی، به خطر بیندازد که منجر به ناتوانی تخمک می‌شود (۲۴، ۱۷۱). در CC های انسانی، زنان مسن تر افزایش بیان ژن‌های دخیل در حفظ انرژی سلولی و دفاع آنتی اکسیدانی را نشان دادند و این افزایش با کاهش کیفیت جنین همراه بود (۱۷۲).

چندین مطالعه بر ارزیابی طول تلومر سلول‌های کومولوسی به عنوان تابعی از سن تمرکز داشته‌اند. نکته جالب توجه این است که تلومرهای سلول‌های کومولوسی در مقایسه با طول تلومر گلبول‌های سفید خون^۶ (WBC) در یک زن به طور قابل توجهی طولانی‌تر است. داده‌های این مطالعات نشان می‌دهد که تنظیم طول تلومر در سلول‌های کومولوسی با سایر سلول‌های بدن متفاوت است و به نظر می‌رسد که کوتاه شدن تلومر یکی از علائم بارز پیری در این سلول‌ها نیست (۱۷۳-۱۷۵). در

¹ Vascular Endothelial Growth Factor

² Epidermal Growth Factor

³ Transforming Growth Factor Beta

⁴ Betacellulin

⁵ Cyclic Nucleotides

⁶ White Blood Cells

سلول‌های کومولوسی و گرانولوزای دیواره‌ای^۱، ساعت پیری برای تلومرها و مشخصات متیلاسیون^۲ DNA در مقایسه با لکوسیت‌ها^۳ کندتر حرکت می‌کند (۱۷۶). البته سلول‌های کومولوسی نیز با افزایش سن، آپوپتوز را نشان می‌دهند و در بیماران بالای ۴۰ سال تخمک نیز با کاهش توانایی لقاح همراه است (۱۷۷). این داده‌ها بر وضعیت زنده ماندن سلول‌های کومولوسی به عنوان یک عامل تعیین کننده کیفیت تخمک تاکید می‌کنند (۱۷۶). سلول‌های کومولوسی به دلیل ویژگی‌ها و در دسترس بودن آن‌ها از برداشت تخمک، در سیستم‌های کشت همزمان برای بهبود نتایج بلوغ آزمایشگاهی^۴ (IVM)، لقاح و رشد جنین استفاده می‌شوند (۱۷۸، ۱۷۹).

محیط القایی سلول‌های کومولوسی

چنانچه تخمک انسان به همراه سلول‌های کومولوسی کشت یابد، میزان بلوغ آن افزایش می‌یابد (۱۹، ۲۰). ترشح عوامل رشد مختلف توسط این سلول‌ها و نیز ترشح عوامل جنینی حمایت کننده مانند سوبستراها و سیتوکین‌ها از طرفی و سم زدایی از محیط کشت از طریق حذف فلزات سنگین، آمونیوم و رادیکال‌های آزاد از سوی دیگر باعث بهبود لانه گزینی جنین و میزان بارداری در لقاح آزمایشگاهی می‌شود (۲۱، ۲۲).

علاوه بر کشت همزمان، استفاده از محیط القایی سلول‌های کومولوسی، که حاوی سیتوکین‌ها، عوامل رشد، اسیدهای آمینه و آنتی‌اکسیدان‌ها است، به طور قابل توجهی باعث بهبود نتایج IVM می‌شود (۲۰، ۱۸۰). برخی مطالعات رشد آزمایشگاهی سلول‌های زایا^۵ را گزارش کرده‌اند که از کشت همزمان با سلول‌های کومولوسی و سلول‌های گرانولوزا و کشت در محیط القایی سلول‌های کومولوسی به دست می‌آیند (۴۳، ۱۸۱، ۱۸۲). مایع فولیکولی و سلول‌های کومولوسی در مدت زمان تولید طبیعی تخمک در بدن نقش پراهمیتی دارند. اخیراً محققان

استفاده از مایع فولیکولی و محیط القایی سلول‌های کومولوسی را به عنوان عوامل موثر برای دستیابی به ساختارهای شبه تخمک در دستور کار خود قرار داده‌اند (۴۱). تولید OLC از سلول‌های بنیادی و زایا با استفاده از غلظت‌های مختلف مایع فولیکولی و همچنین در محیط القایی سلول‌های کومولوسی در مطالعات متعددی گزارش شده است (۴۲-۴۶).

De Souza و همکارانش OLC ها را از سلول‌های بنیادی زایای تخمدان گاو در محیطی که با FF غنی شده بود، تولید کردند (۴۲). Qiu و همکارانش نشان دادند که OLC ها را می‌توان از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف انسانی^۶ که در ۲۰٪ FF طی ۷ تا ۱۴ روز کشت داده شده‌اند، متمایز کرد (۴۴). Shah و همکاران تمایز سلول‌های بنیادی جنینی گاویش به OLC در CCM ۲۰ تا ۴۰ درصد را گزارش کرده‌اند (۴۳). میرزاییان و همکارانش زمانی که سلول‌های بنیادی مزانشیمی صفاق^۷ موش را با ۱۰ درصد FF انسانی یا ۵۰ درصد CCM انسانی القا کردند، به نتیجه‌ی مشابهی دست یافتند، که منجر به تولید OLC های گرد با قطر ۵۰ میکرومتر در روز ۲۱ تمایز شد (۴۵).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه اهمیت حفظ توانایی باروری به ویژه در بیماران مبتلا به سرطان که در سنین پیش از بلوغ قرار دارند و نیز اشاره به روش‌های آن مورد توجه قرار گرفت؛ مشخص شد انواع داربست‌های طبیعی و نیز داربست‌های حاصل از سلول زدایی ECM می‌توانند به عنوان بسترهای مناسبی برای رشد سلول‌های تخمدان استفاده گردند. وجود انواع سلول‌های بنیادی شامل OSC و VSEL ها در بافت تخمدان و ظرفیت بالقوه‌ی این سلول‌ها برای تمایز به سلول‌های شبه تخمک نیز بر احتمال موفقیت روش "تخمدان مصنوعی" می‌افزاید. همچنین عوامل موثر در مایع فولیکولی، سلول‌های کومولوسی و محیط القایی آن‌ها در رشد فولیکول به عنوان فراهم کننده‌های ریزمحیط مناسب تخمک می‌توانند در این روش بسیار موثر باشند. با این

¹ Mural Granulosa

² Methylation

³ leukocytes

⁴ In Vitro Maturation

⁵ Germ Cells

⁶ Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Umbilical Cord

⁷ Peritoneal Mesenchymal Stem Cells

وجود هنوز راه زیادی برای حصول یک نتیجه نهایی و ارائه یک روش قابل اطمینان در استفاده از مهندسی بافت برای بازگرداندن فعالیت فولیکول زایی تخمدان ها وجود دارد.

تضاد منافع: بدینوسیله پدیدآوران اعلام می کنند که این اثر حاصل یک پژوهش مستقل بوده و هیچگونه تضاد منافی با سازمان ها و اشخاص دیگری ندارد.

References

- Vanni V, De Lorenzo R, Privitera L, Canti V, Viganò P, Rovere-Querini P. Safety of fertility treatments in women with systemic autoimmune diseases (SADs). *Expert Opinion on Drug Safety*. 2019;18(9):841-52.
- Dolmans M-M, Amorim CA. Fertility preservation: construction and use of artificial ovaries. *Reproduction*. 2019;158(5):F15-F25.
- Dadashzadeh A, Moghassemi S, Shavandi A, Amorim CA. A review on biomaterials for ovarian tissue engineering. *Acta biomaterialia*. 2021;135:48-63.
- Ramírez-González JA, Vaamonde-Lemos R, Cunha-Filho JS, Varghese AC, Swanson RJ. Overview of the female reproductive system. *Exercise and human reproduction*: Springer; 2016. p. 19-46.
- Sittadjody S, Saul JM, McQuilling JP, Joo S, Register TC, Yoo JJ, et al. In vivo transplantation of 3D encapsulated ovarian constructs in rats corrects abnormalities of ovarian failure. *Nature communications*. 2017;8(1):1-13.
- Silvestris E, Minoia C, Guarini A, Opinto G, Negri A, Dellino M, et al. Ovarian Stem Cells (OSCs) from the Cryopreserved Ovarian Cortex: A Potential for Neo-Oogenesis in Women with Cancer-Treatment Related Infertility: A Case Report and a Review of Literature. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022;44(5):2309-20.
- Chen J, Torres-de la Roche LA, Kahlert UD, Isachenko V, Huang H, Hennefründ J, et al. Artificial Ovary for Young Female Breast Cancer Patients. *Frontiers in Medicine*. 2022;9.
- Cho E, Kim YY, Noh K, Ku SY. A new possibility in fertility preservation: The artificial ovary. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2019;13(8):1294-315.
- Amorim CA, Van Langendonck A, David A, Dolmans M-M, Donnez J. Survival of human pre-antral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicular isolation and in vitro culture in a calcium alginate matrix. *Human Reproduction*. 2009;24(1):92-9.
- Luyckx V, Dolmans M-M, Vanacker J, Scalercio SR, Donnez J, Amorim CA. First step in developing a 3D biodegradable fibrin scaffold for an artificial ovary. *Journal of ovarian research*. 2013;6(1):1-10.
- Luyckx V, Dolmans M-M, Vanacker J, Legat C, Moya CF, Donnez J, et al. A new step toward the artificial ovary: survival and proliferation of isolated murine follicles after autologous transplantation in a fibrin scaffold. *Fertility and sterility*. 2014;101.۱۱۴۹-۵۶:(۴)
- Chiti MC, Dolmans M-M, Orellana R, Soares M, Paulini F, Donnez J, et al. Influence of follicle stage on artificial ovary outcome using fibrin as a matrix. *Human Reproduction*. 2016;31(2):427-35.
- Dath C, Dethy A, Van Langendonck A, Van Eyck A-S, Amorim C, Luyckx V, et al. Endothelial cells are essential for ovarian stromal tissue restructuring after xenotransplantation of isolated ovarian stromal cells. *Human reproduction*. 2011;26(6):1431-9.
- Soares M, Sahrari K, Chiti MC, Amorim C, Ambroise J, Donnez J, et al. The best source of isolated stromal cells for the artificial ovary: medulla or cortex, cryopreserved or fresh? *Human reproduction*. 2015;30(7):1589-98.
- Chiti MC, Dolmans M-M, Lucci C, Paulini F, Donnez J, Amorim C. Further insights into the impact of mouse follicle stage on graft outcome in an artificial ovary environment. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2017;23(6):381-92.
- Shahri PAK, Chiti MC, Amorim CA. Isolation and characterization of the human ovarian cell population for transplantation into an artificial ovary. *Animal reproduction*. 2019;16(1):39.
- Khaleghi S, Eivazkhani F, Moini A, Novin MG, Nazarian H, Fathi R. Isolation of Viable Ovarian Cells From Cryopreserved Ovarian Tissues of Women Undergoing Chemotherapy Induced Premature Ovarian Failure (Chemo-POF) and Their Qualification by Flow Cytometry.
- Telfer E, Anderson R. The existence and potential of germline stem cells in the adult mammalian ovary. *Climacteric*. 2019;22(1):22-6.
- Zhang A, Xu B, Sun Y, Lu X, Niu Z, Chen Q, et al. The effect of human cumulus cells on the maturation and developmental potential of immature oocytes in ICSI cycles. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2012;29(4):313-9.
- Madkour A, Bouamoud N, Kaarouch I, Louanjli N, Saadani B, Assou S, et al. Follicular fluid and supernatant from cultured cumulus-granulosa cells improve in vitro maturation in patients with polycystic ovarian syndrome. *Fertility and sterility*. 2018;110(4):710-9.
- Vithoulkas A, Levanduski M, Goudas VT, Illmensee K. Co-culture of human embryos with autologous cumulus cell clusters and its beneficial impact of secreted growth factors on preimplantation development as compared to

- standard embryo culture in assisted reproductive technologies (ART). *Middle East Fertility Society Journal*. 2017;22(4):317-22.
22. Bhadarka HK, Patel NH, Patel NH, Patel M, Patel KB, Sodagar NR, et al. Impact of embryo co-culture with cumulus cells on pregnancy & implantation rate in patients undergoing in vitro fertilization using donor oocyte. *The Indian Journal of Medical Research*. 2017;146(3):341.
23. Luddi A, Capaldo A, Focarelli R, Gori M, Morgante G, Piomboni P, et al. Antioxidants reduce oxidative stress in follicular fluid of aged women undergoing IVF. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016;14(1):1-7.
24. Dumesic DA, Meldrum DR, Katz-Jaffe MG, Krishner RL, Schoolcraft WB. Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. *Fertility and sterility*. 2015;103(2):303-16.
25. Mirzaeian L, Eftekhari-Yazdi P, Esfandiari F, Eivazkhani F, Rezazadeh Valojerdi M, Moini A, et al. Induction of Mouse Peritoneum Mesenchymal Stem Cells into Germ Cell-Like Cells Using Follicular Fluid and Cumulus Cells-Conditioned Media. *Stem Cells Dev*. 2019;29(8):2544-54.
26. Jarkovska K, Kupcova Skalninkova H, Halada P, Hrabakova R, Moos J, Rezabek K, et al. Development of ovarian hyperstimulation syndrome: interrogation of key proteins and biological processes in human follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. *Mol Hum Reprod*. 2011;17(11):679-92.
27. Regiani T, Cordeiro FB, da Costa LdVT, Salgueiro J, Cardozo K, Carvalho VM, et al. Follicular fluid alterations in endometriosis: label-free proteomics by MSE as a functional tool for endometriosis. *Syst Biol Reprod Med*. 2015;61(5):263-76.
28. Ambekar AS, Kelkar DS, Pinto SM, Sharma R, Hinduja I, Zaveri K, et al. Proteomics of follicular fluid from women with polycystic ovary syndrome suggests molecular defects in follicular development. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(2):744-53.
29. Kim YS, Kim MS, Lee SH, Choi BC, Lim JM, Cha KY, et al. Proteomic analysis of recurrent spontaneous abortion: identification of an inadequately expressed set of proteins in human follicular fluid. *Proteomics*. 2006;6(11):3445-54.
30. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod Update*. 2005;11(5):461-71.
31. Andrei D, Nagy RA, van Montfoort A, Tietge U, Terpstra M, Kok K, et al. Differential miRNA Expression Profiles in Cumulus and Mural Granulosa Cells from Human Pre-ovulatory Follicles. *Microna*. 2019;8(1):61-7.
32. Atrabi MJ, Akbarinejad V, Khanbabaee R, Dalman A, Amorim CA, Najjar-Asl M, et al. Formation and activation induction of primordial follicles using granulosa and cumulus cells conditioned media. *J Cell Physiol*. 2019;234(7):10148-56.
33. Zhang J, Liu W, Sun X, Kong F, Zhu Y, Lei Y, et al. Inhibition of mTOR Signaling Pathway Delays Follicle Formation in Mice. *J Cell Physiol*. 2017;232(3):585-95.
34. Chang HM, Qiao J, Leung PC. Oocyte-somatic cell interactions in the human ovary-novel role of bone morphogenetic proteins and growth differentiation factors. *Hum Reprod Update*. 2016;23(1):1-18.
35. Makabe S, Naguro T, Stallone T. Oocyte-follicle cell interactions during ovarian follicle development, as seen by high resolution scanning and transmission electron microscopy in humans. *Microsc Res Tech*. 2006;69(6):436-49.
36. Huang Z, Wells D. The human oocyte and cumulus cells relationship: new insights from the cumulus cell transcriptome. *Mol Hum Reprod*. 2010;16(10):715-25.
37. Kwon H, Choi DH, Bae JH, Kim JH, Kim YS. mRNA expression pattern of insulin-like growth factor components of granulosa cells and cumulus cells in women with and without polycystic ovary syndrome according to oocyte maturity. *Fertil Steril*. 2010;94(6):2417-20.
38. Zhao SY, Qiao J, Chen YJ, Liu P, Li J, Yan J. Expression of growth differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein-15 in oocytes and cumulus granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2010;94(1):261-7.
39. Uhde K, van Tol HTA, Stout TAE, Roelen BAJ. Metabolomic profiles of bovine cumulus cells and cumulus-oocyte-complex-conditioned medium during maturation in vitro. *Sci Rep*. 2020;10(1):1-18.
40. Sadat Tahajjodi S, Farashahi Yazd E, Agha-Rahimi A, Aflatoonian R, Ali Khalili M, Mohammadi M, et al. Biological and physiological characteristics of human cumulus cells in adherent culture condition. *International journal of reproductive biomedicine*. 2020;18(1):1-10.
41. Zolfaghar M, Mirzaeian L, Beiki B, Naji T, Moini A, Eftekhari-Yazdi P, et al. Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells differentiate into oocyte like cells in vitro by follicular fluid and cumulus cells conditioned medium. *Heliyon*. 2020;6(10):e04992.
42. de Souza G, Costa J, da Cunha E, Passos J, Ribeiro R, Saraiva M, et al. Bovine ovarian stem cells differentiate into germ cells and oocyte-like structures after culture in vitro. *Reproduction in Domestic Animals*. 2020;55(2):201-10.
43. Shah SM, Saini N, Ashraf S, Singh MK, Manik RS, Singla SK, et al. Cumulus cell-conditioned medium supports embryonic stem cell differentiation to germ cell-like cells. *Reproduction, fertility and development*. 2017;29(4):679-93.

44. Qiu P, Bai Y, Pan S, Li W, Liu W, Hua J. Gender depended potentiality of differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into oocyte-Like cells in vitro. *Cell Biochemistry and Function*. 2013;31(5):365-73.
45. Mirzaeian L, Eftekhari-Yazdi P, Esfandiari F, Eivazkhani F, Rezazadeh Valojerdi M, Moini A, et al. Induction of mouse peritoneum mesenchymal stem cells into germ cell-like cells using follicular fluid and cumulus cells-conditioned media. *Stem Cells and Development*. 2019;28(8):554-64.
46. Molaeeeghaleh N, Tork S, Abdi S, Movassaghi S. Evaluating the effects of different concentrations of human follicular fluid on growth, development, and PCNA gene expression of mouse ovarian follicles. *Cells Tissues Organs*. 2020;209(2-3):75-82.
47. Nikolova MP, Chavali MS. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review. *Bioactive materials*. 2019;4:271-92.
48. Asti A, Gioglio L. Natural and synthetic biodegradable polymers: different scaffolds for cell expansion and tissue formation. *The International journal of artificial organs*. 2014;37(3):187-205.
49. Wagner V, Dullaart A, Bock A-K, Zweck A. The emerging nanomedicine landscape. *Nature biotechnology*. 2006;24(10):1211-7.
50. Srikanth M, Kessler JA. Nanotechnology—novel therapeutics for CNS disorders. *Nature reviews neurology*. 2012;8(6):307-18.
51. Pascual-Gil S, Garbayo E, Díaz-Herráez P, Prosper F, Blanco-Prieto MJ. Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials. *Journal of Controlled Release*. 2015;203:23-38.
52. Wu M, Guo Y, Wei S, Xue L, Tang W, Chen D, et al. Biomaterials and advanced technologies for the evaluation and treatment of ovarian aging. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022;20(1):1-41.
53. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *Journal of cell science*. 2010;123(24):4195-200.
54. Clause KC, Barker TH. Extracellular matrix signaling in morphogenesis and repair. *Current opinion in biotechnology*. 2013;24(5):830-3.
55. Claudio-Rizo JA, Rangel-Argote M, Castellano LE, Delgado J, Mata-Mata JL, Mendoza-Novelo B. Influence of residual composition on the structure and properties of extracellular matrix derived hydrogels. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;79:793-801.
56. Yang J, Dang H, Xu Y. Recent advancement of decellularization extracellular matrix for tissue engineering and biomedical application. *Artificial Organs*. 2022;46(4):549-67.
57. Hynes RO, Naba A. Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2012;4(1):a004903.
58. Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF, Russell DL. Extracellular matrix of the developing ovarian follicle. *REPRODUCTION-CAMBRIDGE-*. 2003;126(4):415-24.
59. Sawkins MJ, Saldin LT, Badylak SF, White LJ. ECM hydrogels for regenerative medicine. *Extracellular Matrix for Tissue Engineering and Biomaterials: Springer*; 2018. p. 27-58.
60. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Advanced drug delivery reviews*. 2016;97:4-27.
61. Francés-Herrero E, Rodríguez-Eguren A, Gómez-Álvarez M, de Miguel-Gómez L, Ferrero H, Cervelló I. Future Challenges and Opportunities of Extracellular Matrix Hydrogels in Female Reproductive Medicine. *International journal of molecular sciences*. 2022;23.۲۷۶۵:(۷)
62. Lu H, Ju D-d, Yang G-d, Zhu L-y, Yang X-m, Li J, et al. Targeting cancer stem cell signature gene SMOC-2 Overcomes chemoresistance and inhibits cell proliferation of endometrial carcinoma. *EBioMedicine*. 2019;40:276-89.
63. Poornejad N, Frost TS, Scott DR, Elton BB, Reynolds PR, Roeder BL, et al. Freezing/thawing without cryoprotectant damages native but not decellularized porcine renal tissue. *Organogenesis*. 2015;11(1):30-45.
64. Hassanpour A, Talaie-Khozani T, Kargar-Abarghouei E, Razban V, Vojdani Z. Decellularized human ovarian scaffold based on a sodium lauryl ester sulfate (SLES)-treated protocol, as a natural three-dimensional scaffold for construction of bioengineered ovaries. *Stem cell research & therapy*. 2018;9(1):1-13.
65. Laronda MM, Jakus AE, Whelan KA, Wertheim JA, Shah RN, Woodruff TK. Initiation of puberty in mice following decellularized ovary transplant. *Biomaterials*. 2015;50:20-9.
66. Pennarossa G, De Iorio T, Gandolfi F, Brevini TA. Ovarian decellularized bioscaffolds provide an optimal microenvironment for cell growth and differentiation in vitro. *Cells*. 2021;10(8):2126.
67. Zheng J, Liu Y, Hou C, Li Z, Yang S, Liang X, et al. Ovary-derived Decellularized Extracellular Matrix-based Bioink for Fabricating 3D Primary Ovarian Cells-laden Structures for Mouse Ovarian Failure Correction. *International Journal of Bioprinting*. 2022;8.(۷)
68. Alshaikh AB, Padma AM, Dehlin M, Akouri R, Song MJ, Brännström M, et al. Decellularization and recellularization of the ovary for bioengineering applications; studies in the mouse. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2020;18(1):1-10.

69. Alshaikh AB, Padma AM, Dehlin M, Akouri R, Song MJ, Brännström M, et al. Decellularization of the mouse ovary: comparison of different scaffold generation protocols for future ovarian bioengineering. *Journal of ovarian research*. 2019;12(1):1-9.
70. Liu W-Y, Lin S-G, Zhuo R-Y, Xie Y-Y, Pan W, Lin X-F, et al. Xenogeneic decellularized scaffold: a novel platform for ovary regeneration. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2017;23(2):61-71.
71. Sistani MN, Zavareh S, Valujerdi MR, Salehnia M. Characteristics of a decellularized human ovarian tissue created by combined protocols and its interaction with human endometrial mesenchymal cells. *Progress in Biomaterials*. 2021;10(3):195-206.
72. Pors S, Ramløse M, Nikiforov D, Lundsgaard K, Cheng J, Andersen CY, et al. Initial steps in reconstruction of the human ovary: survival of pre-antral stage follicles in a decellularized human ovarian scaffold. *Human Reproduction*. 2019;34(8):1523-35.
73. Kawecki M, Łabuś W, Klama-Baryla A, Kitala D, Kraut M, Glik J, et al. A review of decellurization methods caused by an urgent need for quality control of cell-free extracellular matrix'scaffolds and their role in regenerative medicine. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2018;106(2):909-23.
74. Gilpin A, Yang Y. Decellularization strategies for regenerative medicine: from processing techniques to applications. *BioMed research international*. 20۲۰۱۷;۱۷
75. Badylak SF. Decellularized allogeneic and xenogeneic tissue as a bioscaffold for regenerative medicine: factors that influence the host response. *Annals of biomedical engineering*. 2014;42(7):1517-27.
76. Eivazkhani F, Abtahi NS, Tavana S, Mirzaeian L, Abedi F, Ebrahimi B, et al. Evaluating two ovarian decellularization methods in three species. *Materials Science and Engineering: C*. 2019;102:670-82.
77. Pennarossa G, Ghiringhelli M, Gandolfi F, Brevini TA. Whole-ovary decellularization generates an effective 3D bioscaffold for ovarian bioengineering. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2020;37(6):1329-39.
78. Nikniaz H, Zandieh Z, Nouri M, Daei-Farshbaf N, Aflatoonian R, Gholipourmalekabadi M, et al. Comparing various protocols of human and bovine ovarian tissue decellularization to prepare extracellular matrix-alginate scaffold for better follicle development in vitro. *BMC biotechnology*. 2021;21:1-8.
79. Alae S, Asadollahpour R, Hosseinzadeh Colagar A, Talaei-Khozani T. The decellularized ovary as a potential scaffold for maturation of preantral ovarian follicles of prepubertal mice. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2021;67(6):413-27.
80. Pennarossa G, Ghiringhelli M, Gandolfi F, Brevini TA. Creation of a bioengineered ovary: isolation of female germline stem cells for the repopulation of a decellularized ovarian bioscaffold. *Next Generation Culture Platforms for Reliable In Vitro Models: Springer*; 2021. p. 139-49.
81. Almeida GHDR, da Silva-Júnior LN, Gibin MS, Dos Santos H, de Oliveira Horvath-Pereira B, Pinho LBM, et al. Perfusion and ultrasonication produce a decellularized porcine whole-ovary scaffold with a preserved microarchitecture. *Cells*. 2023;12(14):1864.
82. Kinnear HM, Tomaszewski CE, Chang FL, Moravek MB, Xu M, Padmanabhan V, et al. The ovarian stroma as a new frontier. *Reproduction*. 2020;160(3):R25-R39.
83. Mescher A. *Epithelial tissue*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018.
84. Knight PG, Glistler C. TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*. 2006;132(2):191-206.
85. Wang S, Zheng Y, Li J, Yu Y, Zhang W, Song M, et al. Single-cell transcriptomic atlas of primate ovarian aging. *Cell*. 2020;180(3):585-600. e19.
86. O'Neill KE, Maher JY, Laronda MM, Duncan FE, LeDuc RD, Lujan ME, et al. Anatomic nomenclature and 3-dimensional regional model of the human ovary: call for a new paradigm. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2023;228(3):270-5. e4.
87. Forabosco A, Sforza C. Establishment of ovarian reserve: a quantitative morphometric study of the developing human ovary. *Fertility and Sterility*. 2007;88(3):675-83.
88. Feng L, Lingling E, Liu H. The effects of separating inferior alveolar neurovascular bundles on osteogenesis of tissue-engineered bone and vascularization. *Biomedical Papers*. 2015;159(4):637-41.
89. McKey J, Bunce C, Batchvarov IS, Ornitz DM, Capel B. Neural crest-derived neurons invade the ovary but not the testis during mouse gonad development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019;116(12):55۷۰-۵:۵
90. Uchida S. Sympathetic regulation of estradiol secretion from the ovary. *Autonomic Neuroscience*. 2015;187:27-35.
91. Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature*. 2004;428(6979):145-50.
92. Wagner M, Yoshihara M, Douagi I, Damdimopoulos A, Panula S, Petropoulos S, et al. Single-cell analysis of human ovarian cortex identifies distinct cell populations but no oogonial stem cells. *Nature communications*. 202۰۱۱۴۷:(۱)۱۱;۰

93. Alberico H, Fleischmann Z, Bobbitt T, Takai Y, Ishihara O, Seki H, et al. Workflow optimization for identification of female germline or oogonial stem cells in human ovarian cortex using single-cell RNA sequence analysis. *Stem Cells*. 2022;۵۲۳-۳۶:(۵)۴۰;۲
94. Wu M, Lu Z, Zhu Q, Ma L, Xue L, Li Y, et al. DDX04+ stem cells in the ovaries of postmenopausal women: existence and differentiation potential. *Stem Cells*. 2022;40(1):88-101.
95. Bhartiya D, Sharma D. Ovary does harbor stem cells-size of the cells matter! *Journal of ovarian research*. 2020;13(1):1-3.
96. Mirzaeian L, Eivazkhani F, Saber M, Moini A, Esfandiari F, Valojerdi MR, et al. In-vivo oogenesis of oogonial and mesenchymal stem cells seeded in transplanted ovarian extracellular matrix. *Journal of Ovarian Research*. 2023;16(1):1-17.
97. Silvestris E, D'oronzio S, Cafforio P, Kardhashi A, Dellino M, Cormio G. In vitro generation of oocytes from ovarian stem cells (OSCs): in search of major evidence. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(24):6225.
98. Saber M, Tavakol P, Esfandiari F. Isolation of female germline stem cells from mouse and human ovaries by differential adhesion. *International Journal of Cell Biology*. 2022;2022.
99. Guo K, Li C-h, Wang X-y, He D-j, Zheng P. Germ stem cells are active in postnatal mouse ovary under physiological conditions. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2016;22(5):316-28.
100. Wang N, Satirapod C, Ohguchi Y, Park E-S, Woods DC, Tilly JL. Genetic studies in mice directly link oocytes produced during adulthood to ovarian function and natural fertility. *Scientific Reports*. 2017;7(1):10011.
101. Martin JJ, Woods DC, Tilly JL. Implications and current limitations of oogenesis from female germline or oogonial stem cells in adult mammalian ovaries. *Cells*. 2019;8(2):93.
102. Silvestris E, Cafforio P, D'Oronzio S, Felici C, Silvestris F, Loverro G. In vitro differentiation of human oocyte-like cells from oogonial stem cells: single-cell isolation and molecular characterization. *Human Reproduction*. 2018;33(3):464-73.
103. Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, et al. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertility and sterility*. 2018;110(3):496-505. e1.
104. Gupta S, Lodha P, Karthick MS, Tandulwadkar SR. Role of autologous bone marrow-derived stem cell therapy for follicular recruitment in premature ovarian insufficiency: review of literature and a case report of world's first baby with ovarian autologous stem cell therapy in a perimenopausal woman of age 45 year. *Journal of Human Reproductive Sciences*. 2018;11(2):125.
105. White YA, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nature medicine*. 2012;18(3):413-21.
106. Leonel ECR. Innovations for Optimizing Fertility and Ovarian Functionality in Female Cancer Patients. *Medical Research Archives*. 2022;10.(۱۰)
107. Virant-Klun I, Zech N, Rožman P, Vogler A, Cvjetičanin B, Klemenc P, et al. Putative stem cells with an embryonic character isolated from the ovarian surface epithelium of women with no naturally present follicles and oocytes. *Differentiation*. 2008;76(8):843-56.
108. Bhartiya D, Parte S, Patel H, Anand S, Sriraman K, Gunjal P. Pluripotent very small embryonic-like stem cells in adult mammalian gonads. *Adult stem cell therapies: alternatives to plasticity*: Springer; 2014. p. 191-209.
109. Ratajczak MZ, Ratajczak J, Suszynska M, Miller DM, Kucia M, Shin D-M. A novel view of the adult stem cell compartment from the perspective of a quiescent population of very small embryonic-like stem cells. *Circulation Research*. 2017;120(1):166-78.
110. Ganguly R, Metkari S, Bhartiya D. Dynamics of bone marrow VSELs and HSCs in response to treatment with gonadotropin and steroid hormones, during pregnancy and evidence to support their asymmetric/symmetric cell divisions. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2018;14(1):110-24.
111. Da Broi M, Giorgi V, Wang F, Keefe D, Albertini D, Navarro P. Influence of follicular fluid and cumulus cells on oocyte quality: clinical implications. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2018;35(5):735-51.
112. Eppig JJ, Schultz RM, O'Brien M, Chesnel F. Relationship between the developmental programs controlling nuclear and cytoplasmic maturation of mouse oocytes. *Developmental biology*. 1994;164(1):1-9.
113. Brinca AT, Ramalhinho AC, Sousa Â, Olini AH, Breitenfeld L, Passarinha LA, et al. Follicular Fluid: A Powerful Tool for the Understanding and Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome. *Biomedicines*. 2022;10(6):1254.
114. Pla I, Sanchez A, Pors SE, Pawlowski K, Appelqvist R, Sahlin KB, et al. Proteome of fluid from human ovarian small antral follicles reveals insights in folliculogenesis and oocyte maturation. *Human Reproduction*. 2021;36(3):756-70.
115. Schallmoser A, Einkenkel R, Färber C, Sängner N. In vitro growth (IVG) of human ovarian follicles in frozen thawed ovarian cortex tissue culture supplemented with follicular fluid under hypoxic conditions. 2022.

116. Von Wald T, Monisova Y, Hacker MR, Yoo SW, Penzias AS, Reindollar RR, et al. Age-related variations in follicular apolipoproteins may influence human oocyte maturation and fertility potential. *Fertility and sterility*. 2010;93(7):2354-61.
117. Moreno JM, Núñez MJ, Quinonero A, Martínez S, de la Orden M, Simón C, et al. Follicular fluid and mural granulosa cells microRNA profiles vary in in vitro fertilization patients depending on their age and oocyte maturation stage. *Fertility and sterility*. 2015;104(4):1037-46. e1.
118. Liu N, Ma Y, Li R, Jin H, Li M, Huang X, et al. Comparison of follicular fluid amphiregulin and EGF concentrations in patients undergoing IVF with different stimulation protocols. *Endocrine*. 2012;42(3):708-16.
119. Chattopadhyay R, Ganesh A, Samanta J, Jana S, Chakravarty B, Chaudhury K. Effect of follicular fluid oxidative stress on meiotic spindle formation in infertile women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecologic and obstetric investigation*. 2010;69(3):197-202.
120. Prieto L, Quesada JF, Cambero O, Pacheco A, Pellicer A, Codoceo R, et al. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. *Fertility and sterility*. 2012;98(1):126-30.
121. Takeo S, Kimura K, Shirasuna K, Kuwayama T, Iwata H. Age-associated deterioration in follicular fluid induces a decline in bovine oocyte quality. *Reproduction, Fertility and Development*. 2017;29(4):759-67.
122. Ban Y, Ran H, Chen Y, Ma L. Lipidomics analysis of human follicular fluid from normal-weight patients with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Journal of ovarian research*. 2021;14(1):1-10.
123. O'gorman A, Wallace M, Cottell E, Gibney M, McAuliffe F, Wingfield M, et al. Metabolic profiling of human follicular fluid identifies potential biomarkers of oocyte developmental competence. *Reproduction*. 2013;146(4):389-95.
124. Sun Z, Wu H, Lian F, Zhang X, Pang C, Guo Y, et al. Human follicular fluid metabolomics study of follicular development and oocyte quality. *Chromatographia*. 2017;80(6):901-9.
125. Luti S, Fiaschi T, Magherini F, Modesti PA, Piomboni P, Governini L, et al. Relationship between the metabolic and lipid profile in follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. *Molecular Reproduction and Development*. 2020;87(9):986-97.
126. Carbone M, Tatone C, Monache SD, Marci R, Caserta D, Colonna R, et al. Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: characterization and age-dependent changes. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2003;9(11):639-43.
127. Lambrinoudaki IV, Augoulea A, Christodoulakos GE, Economou EV, Kaparos G, Kontoravdis A, et al. Measurable serum markers of oxidative stress response in women with endometriosis. *Fertility and sterility*. 2009;91(1):46-50.
128. Luddi A, Governini L, Capaldo A, Campanella G, De Leo V, Piomboni P, et al. Characterization of the age-dependent changes in antioxidant defenses and protein's sulfhydryl/carbonyl stress in human follicular fluid. *Antioxidants*. 2020;9(10):927.
129. Agarwal A, Gupta S, Sharma R. Oxidative stress and its implications in female infertility—a clinician's perspective. *Reproductive biomedicine online*. 2005;11(5):641-50.
130. Oral O, Kutlu T, Aksoy E, Fıçıcıoğlu C, Uslu H, Tuğrul S. The effects of oxidative stress on outcomes of assisted reproductive techniques. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2006;23(2):81-5.
131. Sasaki H, Hamatani T, Kamijo S, Iwai M, Kobanawa M, Ogawa S, et al. Impact of oxidative stress on age-associated decline in oocyte developmental competence. *Frontiers in endocrinology*. 2019;10:811.
132. Igarashi H, Takahashi T, Nagase S. Oocyte aging underlies female reproductive aging: biological mechanisms and therapeutic strategies. *Reproductive medicine and biology*. 2015;14(4):159-69.
133. Debbarh H, Louanjli N, Aboulmaouahib S, Jamil M, Ahbbas L, Kaarouch I, et al. Antioxidant activities and lipid peroxidation status in human follicular fluid: age-dependent change. *Zygote*. ۲۰۲۱;۲۹(۶):۴۹۰-۴۹۵.
134. Gongdashetti K, Gupta P, Dada R, Malhotra N. Follicular fluid oxidative stress biomarkers and ART outcomes in PCOS women undergoing in vitro fertilization: A cross-sectional study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2021;19(5):449.
135. Sun Z, Chang H-M, Wang A, Song J, Zhang X, Guo J, et al. Identification of potential metabolic biomarkers of polycystic ovary syndrome in follicular fluid by SWATH mass spectrometry. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2019;17.۱-۱۰:(۱)
136. Liu L, Yin T-l, Chen Y, Li Y, Yin L, Ding J, et al. Follicular dynamics of glycerophospholipid and sphingolipid metabolisms in polycystic ovary syndrome patients. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2019;185:142-9.
137. Cordeiro FB, Cataldi TR, de Souza BZ, Rochetti RC, Fraietta R, Labate CA, et al. Hyper response to ovarian stimulation affects the follicular fluid metabolomic profile of women undergoing IVF similarly to polycystic ovary syndrome. *Metabolomics*. 2018;14.۱-۱۱:(۴)

138. Lucki NC, Sewer MB. The interplay between bioactive sphingolipids and steroid hormones. *Steroids*. 2010;75(6):390-9.
139. Li S, Qi J, Tao Y, Zhu Q, Huang R, Liao Y, et al. Elevated levels of arachidonic acid metabolites in follicular fluid of PCOS patients. *Reproduction*. 2020;159(2):159-69.
140. Yang J, Li Y, Li S, Zhang Y, Feng R, Huang R, et al. Metabolic signatures in human follicular fluid identify lysophosphatidylcholine as a predictor of follicular development. *Communications Biology*. ۲۰۲۲;۱(۱):۱-۱۱.
141. Józwiak M, Józwiak M, Milewska AJ, Battaglia FC, Józwiak M. Competitive inhibition of amino acid transport in human preovulatory ovarian follicles. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2017;63(5):311-7.
142. Chen X, Lu T, Wang X, Sun X, Zhang J, Zhou K, et al. Metabolic alterations associated with polycystic ovary syndrome: A UPLC Q-Exactive based metabolomic study. *Clinica Chimica Acta*. 2020;502:280-6.
143. Bianchi L, Gagliardi A, Landi C, Focarelli R, De Leo V, Luddi A, et al. Protein pathways working in human follicular fluid: the future for tailored IVF? *Expert reviews in molecular medicine*. 2016;18.
144. Zamah AM, Hassis ME, Albertolle ME, Williams KE. Proteomic analysis of human follicular fluid from fertile women. *Clinical proteomics*. 2015;12(1):1-12.
145. la Cour Poulsen L, Pla I, Sanchez A, Grøndahl ML, Marko-Varga G, Andersen CY, et al. Progressive changes in human follicular fluid composition over the course of ovulation: quantitative proteomic analyses. *Molecular and cellular endocrinology*. 2019;495:110522.
146. Zhao H, Zhao Y, Li T, Li M, Li J, Li R, et al. Metabolism alteration in follicular niche: The nexus among intermediary metabolism, mitochondrial function, and classic polycystic ovary syndrome. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015;86:295-307.
147. Sugiura K, Pendola FL, Eppig JJ. Oocyte control of metabolic cooperativity between oocytes and companion granulosa cells: energy metabolism. *Developmental biology*. 2005;279(1):20-30.
148. Zhang Y, Liu L, Yin T-L, Yang J, Xiong C-L. Follicular metabolic changes and effects on oocyte quality in polycystic ovary syndrome patients. *Oncotarget*. 2017;8(46):80472.
149. Yang X, Wu R, Qi D, Fu L, Song T, Wang Y, et al. Profile of bile acid metabolomics in the follicular fluid of PCOS patients. *Metabolites*. 2021;11(12):845.
150. Yu L, Liu M, Wang Z, Liu T, Liu S, Wang B, et al. Correlation between steroid levels in follicular fluid and hormone synthesis related substances in its exosomes and embryo quality in patients with polycystic ovary syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2021;19(1):1-11.
151. Combelles CM. The antral follicle: a microenvironment for oocyte differentiation. *International Journal of Developmental Biology*. 2013;56(10-11-12):819-31.
152. Li Z, Zhu Y, Li H, Jiang W, Liu H, Yan J, et al. Leukaemia inhibitory factor in serum and follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome and its correlation with IVF outcome. *Reproductive BioMedicine Online*. 2018;36(4):483-9.
153. Aghajanova L. Update on the role of leukemia inhibitory factor in assisted reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2010;22(3):213-9.
154. Basuino¹ L, Silveira CF. Human follicular fluid and effects on reproduction. 2016.
155. Zhou C-J, Wu S-N, Shen J-P, Wang D-H, Kong X-W, Lu A, et al. The beneficial effects of cumulus cells and oocyte-cumulus cell gap junctions depends on oocyte maturation and fertilization methods in mice. *PeerJ*. 2016;4:e1761.
156. Fahiminiya S, Gérard N. Follicular fluid in mammals. *Gynecologie, Obstetrique & Fertilité*. 2010;38(6):402-4.
157. Tahajjodi SS, Yazd EF, Agha-Rahimi A, Aflatoonian R, Khalili MA, Mohammadi M, et al. Biological and physiological characteristics of human cumulus cells in adherent culture condition. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2020;18(1):1.
158. Coticchio G, Dal Canto M, Mignini Renzini M, Guglielmo MC, Brambillasca F, Turchi D, et al. Oocyte maturation: gamete-somatic cells interactions, meiotic resumption, cytoskeletal dynamics and cytoplasmic reorganization. *Human reproduction update*. 2015;21(4):427-54.
159. Wigglesworth K, Lee K-B, O'Brien MJ, Peng J, Matzuk MM, Eppig JJ. Bidirectional communication between oocytes and ovarian follicular somatic cells is required for meiotic arrest of mammalian oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(39):E3723-E9.
160. Monniaux D. Driving folliculogenesis by the oocyte-somatic cell dialog: Lessons from genetic models. *Theriogenology*. 2016;86(1):41-53.
161. Ge L, Sui H-S, Lan G-C, Liu N, Wang J-Z, Tan J-H. Coculture with cumulus cells improves maturation of mouse oocytes denuded of the cumulus oophorus: observations of nuclear and cytoplasmic events. *Fertility and Sterility*. 2008;90(6):2376-88.
162. Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Human reproduction update*. 2008;14(2):159-77.

163. FitzHarris G, Siyanov V, Baltz JM. Granulosa cells regulate oocyte intracellular pH against acidosis in preantral follicles by multiple mechanisms. 2007.
164. Simon AM, Goodenough DA, Li E, Paul DL. Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature*. 1997;385(6616):525-9.
165. Albertini DF, Combelles C, Benecchi E, Carabatsos MJ. Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development. *Reproduction*. 2001;121(5):647-53.
166. Sutton-McDowall ML, Gilchrist RB, Thompson JG. The pivotal role of glucose metabolism in determining oocyte developmental competence. *Reproduction*. 2010;139(4):685.
167. Shaeib F, Khan SN, Ali I, Thakur M, Saed G, Dai J, et al. The defensive role of cumulus cells against reactive oxygen species insult in metaphase II mouse oocytes. *Reproductive Sciences*. 2016;23(4):498-507.
168. Lolicato F, Brouwers JF, de Lest CHv, Wubbolts R, Aardema H, Priore P, et al. The cumulus cell layer protects the bovine maturing oocyte against fatty acid-induced lipotoxicity. *Biology of reproduction*. 2015;92(1):16, 1.-
169. Devine PJ, Perreault SD, Luderer U. Roles of reactive oxygen species and antioxidants in ovarian toxicity. *Biology of reproduction*. 2012;86(2):27, 1-10.
170. Tatemoto H, Sakurai N, Muto N. Protection of porcine oocytes against apoptotic cell death caused by oxidative stress during in vitro maturation: role of cumulus cells. *Biology of reproduction*. 2000;63(3):805-10.
171. Keefe D, Kumar M, Kalmbach K. Oocyte competency is the key to embryo potential. *Fertility and Sterility*. 2015;103(2):317-22.
172. Lee M-S, Liu C-H, Lee T-H, Wu H-M, Huang C-C, Huang L-S, et al. Association of creatin kinase B and peroxiredoxin 2 expression with age and embryo quality in cumulus cells. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2010;27(11):629-39.
173. Hanson BM, Tao X, Zhan Y, Kim JG, Klimczak AM, Herlihy NS, et al. Shorter telomere length of white blood cells is associated with higher rates of aneuploidy among infertile women undergoing in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 2021;115(4):957-65.
174. Lara-Molina EE, Franasiak JM, Marin D, Tao X, Díaz-Gimeno P, Florensa M, et al. Cumulus cells have longer telomeres than leukocytes in reproductive-age women. *Fertility and sterility*. 2020;113(1):217-23.
175. Morin SJ, Tao X, Marin D, Zhan Y, Landis J, Bedard J, et al. DNA methylation-based age prediction and telomere length in white blood cells and cumulus cells of infertile women with normal or poor response to ovarian stimulation. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(12):3761.
176. Babayev E, Duncan FE. Age-associated changes in cumulus cells and follicular fluid: The local oocyte microenvironment as a determinant of gamete quality. *Biology of reproduction*. 2022;106(2):351-65.
177. Lee KS, Joo BS, Na YJ, Yoon MS, Choi OH, Kim WW. Clinical assisted reproduction: cumulus cells apoptosis as an indicator to predict the quality of oocytes and the outcome of IVF-ET. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2001;18(9):490-8.
178. Siristatidis CS, Maheshwari A, Vaidakis D, Bhattacharya S. In vitro maturation in subfertile women with polycystic ovarian syndrome undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018.(11)
179. Lee H-J, Quaas AM, Wright DL, Toth TL, Teixeira JM. In vitro maturation (IVM) of murine and human germinal vesicle (GV)-stage oocytes by coculture with immortalized human fallopian tube epithelial cells. *Fertility and sterility*. 2011;95(4):1344-8.
180. Abdel-Ghani MA, Abe Y, Asano T, Hamano S, Suzuki H. Effect of bovine cumulus-oocyte complexes-conditioned medium on in-vitro maturation of canine oocytes. *Reproductive medicine and biology*. 2011;10(1):43-9.
181. Chen H-F, Jan P-S, Kuo H-C, Wu F-C, Lan C-W, Huang M-C, et al. Granulosa cells and retinoic acid co-treatment enrich potential germ cells from manually selected Oct4-EGFP expressing human embryonic stem cells. *Reproductive biomedicine online*. 2014.۳۱۹-۳۲۶:(۳)۲۹;
182. Qing T, Shi Y, Qin H, Ye X, Wei W, Liu H, et al. Induction of oocyte-like cells from mouse embryonic stem cells by co-culture with ovarian granulosa cells. *Differentiation*. 2007;75(10):902-11.

Original Article

Moderating role of cognitive ability in the Relationship between perceived Stress with psychosomatic disorders in women with chronic pain

Received: 15/03/2024 - Accepted: 03/08/2025

Zahra Rezasoltani^{1,2}
Farideh Eivazkhani¹
Somayeh Tavana¹
Ashraf Moini^{3,4}
Firoozeh Ghaffari³
Rouhollah Fathi^{1*}

¹Department of Embryology,
Reproductive Biomedicine Research
Center, Royan Institute for
Reproductive Biomedicine, ACECR,
Tehran, Iran.

²Department of Stem Cells
Technology and Tissue Regeneration,
University of Science and Culture,
Tehran, Iran

³Department of Endocrinology and
Female Infertility, Reproductive
Biomedicine Research Center, Royan
Institute for Reproductive
Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

⁴Department of Obstetrics and
Gynecology, Arash Hospital, Tehran,
Iran

⁵Department of Obstetrics and
Gynecology, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: rfathi79@royaninstitute.org

Abstract

Introduction: Psychosomatic disorders are associated with psychological factors and increasing sources of stress in today's world and are increasing. The present study aimed to determine the moderating effect of cognitive ability in the relationship between perceived stress and Psychosomatic Disorders.

Methods: The present study is descriptive-correlational. The statistical population of the study includes all women with chronic pain in Ahvaz in 2021. The statistical sample included 207 women from the mentioned group who were selected by purposive sampling method with inclusion and exclusion criteria from those who referred to several medical and psychological centers in Ahvaz. To collect data from the demographic questionnaire, "The Moher Psychosomatic Symptoms in Nonclinical Context Questionnaire", "Nejati Cognitive Abilities Questionnaire", and "Perceived Stress Scale" were used. And were analyzed using Pearson correlation and hierarchical linear regression.

Results: The results showed a significant relationship between perceived stress and psychosomatic disorders ($r=0.784$, $p<0.01$), a significant negative relationship between cognitive ability with psychosomatic disorders ($r=-0.587$, $p<0.01$), and a significant negative relationship between perceived stress and cognitive ability ($r=-0.448$, $p<0.001$). Also, the findings of hierarchical regression analysis confirmed moderating role of cognitive Ability ($p<0.01$, $\beta=0.192$) in the relationship between perceived stress and Psychosomatic Disorders.

Conclusion: The present study emphasizes the modulatory role of cognitive empowerment and its importance in perceived stress with psychosomatic disorders. Therefore, reducing the deficits in the cognitive ability of people and giving them the necessary training and knowledge, can have a significant impact on improving the symptoms of people with mental disorders.

Keywords: Psychosomatic Disorders, Cognitive Ability, Perceived Stress, Women with Chronic Pains