

مروری بر فناوری‌های میکروسیال در حفظ باروری با تمرکز بر بافت تخمدان؛ شواهد بالینی و چشم‌اندازهای پژوهشی

حمید بهرامیان^۱، مهدی ستاری نجف آبادی^۱، حسین صالحی^۱، سید مهرداد عظیمی^۱، وجیهه عسگری^۱

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: فناوری میکروسیال به ابزارهایی دگرگون‌کننده در پزشکی تولیدمثل تبدیل شده‌اند و با کنترل دقیق دینامیک سیالات در مقیاس میکرو، بازآفرینی شرایط فیزیولوژیک را برای جابه‌جایی گامت، کشت جنین و مدل‌سازی بافت تخمدانی ممکن می‌سازند.

روش‌ها: این مرور با تمرکز بر مقالات پر استناد ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۵، چشم‌انداز کنونی پلتفرم‌های میکروسیال شامل سیستم‌های قطره‌محور، جریان پیوسته، چاپ سه‌بعدی و محیط متخلخل را بررسی می‌کند. همچنین در این مرور، بر انتخاب نوع مواد، شکل دستگاه‌ها و یکپارچه‌سازی عملکردی با تمرکز بر بافت تخمدان در عملکرد تکنیک‌های باروری مورد بحث و بررسی می‌باشد.

یافته‌ها: در تکنیک کمک‌باروری، جداسازی میکروسیالی اسپرم انتخاب اسپرماتوزوای متحرک با DNA سالم و ریخت‌شناسی جنین را نشان داده است؛ اما بهبود پایدار در نرخ لقاح، بارداری بالینی و تولد زنده در جمعیت‌های انتخاب‌نشده اثبات نشده مانده است. سیستم‌های Lab-on-a-chip که جریان‌سازی اووسیت، لقاح و کشت جنین را ترکیب می‌کنند، در مدل‌های حیوانی امکان‌پذیر بوده‌اند اما داده انسانی معتبر ندارند. در بافت شناسی تخمدان، پلتفرم‌های Follicle-on-a-chip از رشد فولیکول انسانی تحت پرفیوژن پشتیبانی می‌کنند و چپ‌هایی مانند EVATAR پروفایل‌های هورمونی چرخه ۲۸ روزه را بازآفریده‌اند. کپسوله‌سازی Core-shell فولیکول‌زایی برون‌تنی را در موش تا اووسیت متافاز II پیش برده و راهبردهای حفظ باروری مستقل از پیوند را مطرح کرده است.

نتیجه‌گیری: موانع کلیدی مطالعات بالینی شامل مقیاس‌پذیری تولید، استانداردسازی، محدودیت نقاط پایانی انسانی و چالش‌های رگ‌زایی و کشت بلندمدت است. اولویت‌های آینده شامل کارآزمایی‌های تصادفی‌شده چندمرکزی با تولد زنده به عنوان نقطه پایانی اولیه، چارچوب‌های گزارش‌دهی استاندارد و تعامل با نهادهای نظارتی می‌شود.

واژگان کلیدی: میکروسیالات؛ تکنیک‌های کمک‌باروری؛ تخمدان؛ Lab-on-a-chip

ارجاع: بهرامیان حمید، ستاری نجف آبادی مهدی، صالحی حسین، عظیمی سیدمهرداد، عسگری وجیهه. مروری بر فناوری‌های میکروسیال در حفظ باروری با تمرکز بر بافت تخمدان؛ شواهد بالینی و چشم‌اندازهای پژوهشی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۵؛ ۴۴ (۸۶۶): ۱۰۰۹-۱۰۲۴.

مقدمه

فناوری‌های میکروسیال کنترل دقیقی بر دینامیک سیال در مقیاس میکرو ارائه می‌دهند و امکان بازآفرینی محیط‌های فیزیولوژیک غیرقابل دستیابی با سیستم‌های کشت ایستای متداول را فراهم می‌کنند. در پزشکی تولیدمثل، این پلتفرم‌ها از دستگاه‌های کانالی ساده به سیستم‌های پیچیده organ-on-a-chip تکامل یافته‌اند که قادر به مدل‌سازی گرادیان‌های بیوشیمیایی، نیروهای برشی و سیگنال‌دهی زمانی دستگاه تولیدمثل طبیعی هستند. کاربرد آن‌ها کل فرایند تکنیک کمک‌باروری (ART) را در بر می‌گیرد، از جمله جداسازی اسپرم بر

اساس تحرک، لقاح کنترل‌شده، پرفیوژن پیوسته جنین و کشت فولیکول تخمدانی برای حفظ باروری. علی‌رغم نوآوری سریع، کارآزمایی بالینی همچنان با چالش‌هایی در زمینه زیست‌سازگاری مواد، مقیاس‌پذیری تولید، استانداردسازی مقرراتی و فقدان کارآزمایی‌های معتبر با گزارش نرخ تولد زنده محدود مانده است. این مرور، شواهد موجود درباره طراحی پلتفرم‌های میکروسیال، کاربردهای ART، رویکردهای Organ-on-a-chip در بافت‌شناسی تخمدان و موانعی که باید برای پر کردن شکاف میان نوآوری آزمایشگاهی و عملکرد بالینی روتین برطرف شوند را جمع می‌کند.

۱- گروه علوم تشریحی و بیولوژی تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: وجیهه عسگری؛ گروه علوم تشریحی و بیولوژی تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: V.asgari@med.mui.ac.ir

روش‌ها

به منظور دستیابی به یک مرور جامع بر متون علمی، جست‌وجویی نظام‌مند در پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر نظیر Scopus, PubMed, Web of Science و Google Scholar در بازه زمانی ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۵ انجام شد. استراتژی جست‌وجو بر اساس چهار کلیدواژه اصلی شامل «میکروسیال» (Microfluidics)، «حفظ باروری» (Fertility)، «بافت تخمدان» (Ovarian Tissue) و «تراشه‌ها» (Preservation)، «Organ-on-a-Chip» تدوین گردید. در این مطالعه، تمرکز اصلی بر انتخاب مقالات پرآستناد و تأثیرگذار قرار گرفته تا چشم‌انداز کنونی پلتفرم‌های میکروسیال، از جمله سیستم‌های قطره‌محور، جریان پیوسته و محیط‌های متخلخل، به دقت ارزیابی شود. معیارهای انتخاب مقالات بر پارامترهای فنی نظیر انتخاب مواد زیستی، طراحی هندسی دستگاه‌ها و یکپارچه سازی عملکردی متمرکز می باشد. همچنین، تأکید ویژه‌ای بر نحوه تسهیل کشت و بلوغ بافت تخمدان توسط این فناوری‌ها صورت خواهد گرفت تا شکاف میان طراحی‌های مهندسی و کاربردهای بالینی در حوزه کمک‌باروری تبیین گردد. با ترکیب شواهد از رویکردهای متنوع میکروسیال، این روش‌شناسی چارچوبی دقیق برای تحلیل‌گذار این پلتفرم‌ها از نمونه‌های آزمایشگاهی به ابزارهای بالینی فراهم می‌آورد.

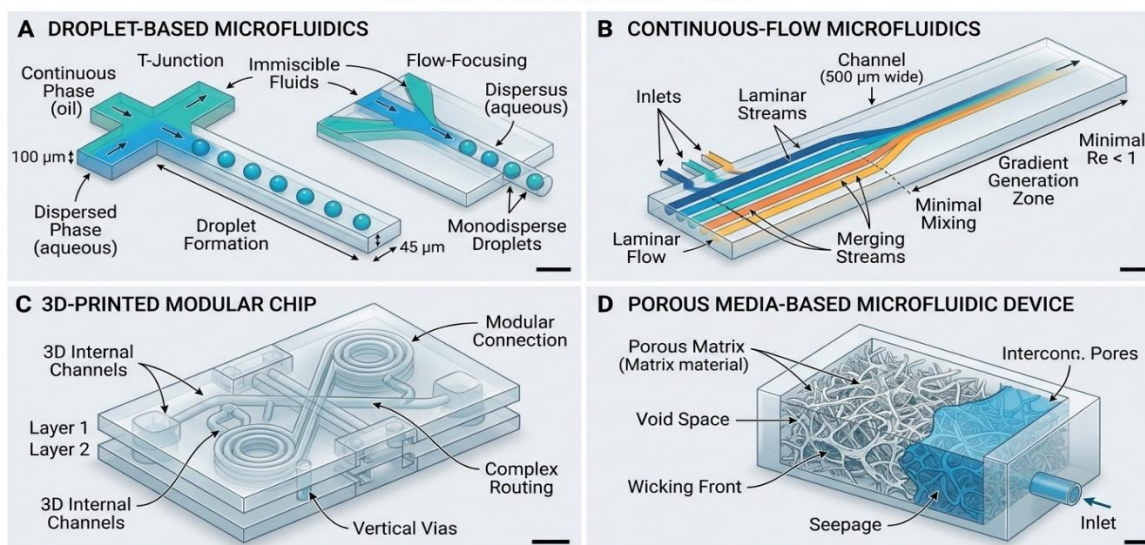
یافته‌ها

۱- پلتفرم‌های میکروسیال در پژوهش‌های زیست‌پزشکی

دستگاه‌های میکروسیال به ابزارهایی دگرگون‌کننده در پژوهش زیست‌پزشکی تبدیل شده‌اند و دستکاری دقیق سیالات با حجم کم را

برای تشخیص، رساندن دارو، مدل‌سازی بافت و غربالگری ممکن می‌سازند. پلتفرم‌های میکروسیال محیط‌های مینیاتوری و کنترل شده‌ای برای دستکاری سیالات در مقیاس میکرومتر فراهم می‌کنند و کنترل دقیق شرایط کشت سلولی، گرایان‌های شیمیایی و واکنش‌های ضروری برای مطالعات زیست‌پزشکی را ممکن می‌سازند (۱، ۲). این دستگاه‌ها زیربنای کاربردهای Organ-on-a-chip، میکروسیالات قطره‌محور (Droplet microfluidics) و غربالگری پرتوان را تشکیل می‌دهند. دو روش غالب این حوزه را تعریف می‌کنند. میکروسیالات قطره‌محور امکان تولید و دستکاری قطرات تک‌اندازه را به عنوان میکروراکتورهای برای کپسوله سازی سلول‌ها یا زیست‌مولکول‌ها و ساخت ذرات میکرو و نانو با خواص کنترل شده فراهم می‌کند (۳، ۴). در مقابل، میکروسیالات جریان پیوسته (Continuous-flow) جریان پیوسته و تولید گرایان درون کانال‌ها را ممکن می‌سازد و برای جداسازی سلولی و آنالیزهای شیمیایی مناسب است (۵) (شکل ۱). چاپ سه بعدی و ساخت افزودنی به طور فزاینده‌ای برای نمونه سازی و مقیاس بندی دستگاه‌های میکروسیالی به کار می‌روند و محدودیت‌های لیتوگرافی نرم سنتی را برطرف کرده و امکان ساخت چپ‌های سریع، مدولار و قابل استفاده مجدد را فراهم می‌کنند. با این حال، رسوب گذاری و استفاده مجدد بلندمدت همچنان موضوعاتی فعال در بحث هستند و راهبردهای ضدرسوب مانند اصلاح سطح برای کاربرد زیست‌پزشکی پایدار اهمیت دارند. میکروسیالات مبتنی بر محیط متخلخل (porous media) و ناپیوسته پدیده‌های انتقالی منحصربه فردی ارائه می‌دهند و به عنوان مسیری برای دستگاه‌های تشخیصی نوین و معماری‌های چپ متخلخل در زیست‌پزشکی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۶).

MICROFLUIDIC ARCHITECTURES



شکل ۱. نمای شماتیک از ساختارهای میکروسیال‌ها در ۴ مدل معروف آن در پژوهش‌های پزشکی

در زمینه‌ی مواد و ساخت، پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان (PDMS) به دلیل شفافیت نوری، زیست‌سازگاری و سهولت ساخت همچنان الاستومری پرکاربرد است؛ با این حال، نگرانی‌ها درباره نفوذپذیری و جذب زیست‌مولکول‌ها، بررسی مواد جایگزین و پوشش‌های سطحی را برانگیخته است. مواد پلیمری و معدنی از جمله PMMA، سیلیکون و شیشه در رویکردهای مختلف ساخت با توازن میان زیست‌سازگاری، مقاومت شیمیایی و مقیاس‌پذیری برای کارازمایی بالینی به‌کار می‌روند (۳). سیستم‌های هیدروژل میکروسیالی فرمت‌های تزریقی با کاشت‌نی برای رساندن سلول و آزادسازی پایدار را ممکن می‌سازند و نشان می‌دهند که یکپارچه‌سازی هیدروژل-میکروسیالات از پزشکی بازساختی و درمان‌های هدفمند پشتیبانی می‌کند. حوزه کاربرد، سیستم‌های organ-on-a-chip و میکروفیزولوژیک ویژگی‌های کلیدی بافت‌ها و اندام‌های انسانی را بازآفرینی می‌کنند و غربالگری دارو، ارزیابی سمیت و مطالعات مکانیستی فراتر از کشت سلولی متداول را ممکن می‌سازند و بدین ترتیب پژوهش بالینی را تسریع کرده و وابستگی به مدل‌های حیوانی را کاهش می‌دهند (۷). پلتفرم‌های میکروسیالی پرتوان از غربالگری سریع زیست‌مواد، نانوذرات و داروهای کاندیدا به مصرف کمتر معرف پشتیبانی می‌کنند (۴). تشخیص و آزمایش در محل مراقبت از پلتفرم‌های میکروسیالی قابل حمل، از جمله دستگاه‌های مبتنی بر کاغذ و محیط متخلخل، بهره‌می‌برند که آنالیزهای سریع و کم‌هزینه در محیط‌های بالینی را تسهیل می‌کنند (۵، ۸).

در نگاه به آینده، تولید محصولات تجاری این زمینه همچنان با موانع مقیاس‌پذیری تولید، استانداردسازی و نگرانی‌های پایداری بلندمدت روبه‌رو است، هرچند تلاش‌های جاری از طریق نوآوری در مواد، یکپارچه‌سازی هوش مصنوعی و طراحی‌های مدولار در پی رفع این موانع هستند (۲، ۴). یکپارچه‌سازی هوش مصنوعی با میکروسیالات، طراحی خودکار دستگاه، بهینه‌سازی آزمایش‌ها و تفسیر بهتر داده‌ها را نوید می‌دهد. شکافی پایدار میان حجم بالای پژوهش‌های میکروسیالی و تعداد نسبتاً کمتر ارائه‌های مقرراتی وجود دارد؛ درک استانداردسازی تولید، کنترل کیفیت و اعتبارسنجی بالینی برای غلبه بر این گلوگاه ضروری است. مبادلات مواد میان PDMS و جایگزین‌ها، تنش‌های میان چاپ سه‌بعدی و لیتوگرافی نرم سنتی از نظر زبری سطح و رسوب‌گذاری، و نیاز به چارچوب‌های مقرراتی هماهنگ، مجموعاً چالش‌ها و فرصت‌هایی را تعریف می‌کنند که آینده دستگاه‌های میکروسیالی در پژوهش پزشکی را شکل می‌دهند.

۲- فناوری‌های میکروسیالی در فناوری تکنیک‌های

کمک‌باروری: شواهد و چشم‌انداز بالینی

فناوری میکروسیالی به‌عنوان پلتفرمی امیدبخش برای ارتقای فناوری ART از طریق امکان‌پذیر ساختن دستکاری دقیق گامت‌ها و

جنین‌ها، کاهش حجم‌های مورد نیاز، تسهیل شرایط کشت پویا (dynamic culture)، و بهبود بالقوه انتخاب‌پذیری در ارزیابی اسپرم و جنین ظهور کرده است. این سنتز نشان می‌دهد که چگونه رویکردهای میکروسیالی در روندهای کاری لقاح آزمایشگاهی (IVF) و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) شامل جداسازی اسپرم، جابه‌جایی اووسیت، لقاح، کشت جنین و انجماد (cryopreservation) به‌کار گرفته شده‌اند (۹، ۱۰) و همزمان ارتباط بالینی و شواهد کنونی برای پیامدهایی نظیر نرخ لقاح، کیفیت جنین، بارداری و نرخ تولد زنده را مورد بحث قرار می‌دهد. در مواردی که ابهاماتی میان مطالعات وجود دارد، تناقضات و شکاف‌ها برجسته شده و استراتژی‌های میکروسیالی پیوسته (Continuous) در برابر مرحله‌ای مجزا (Discrete-step) در چشم‌انداز گسترده‌تر ART زمینه‌یابی شده‌اند (۱۱).

بررسی و مرور مقالات در بازه سالی ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۵، از این مشاهده پشتیبانی می‌کند که فناوری‌های میکروسیالی به‌طور فزاینده‌ای با مراحل مختلف ART از جمله آنالیز گامت، جداسازی، دستکاری، کشت و پایش در ارتباط هستند که این امر توسط دستگاه‌هایی انجام می‌شود که با الگوبرداری از فیزیولوژی لوله فالوپ (Oviductal) برای بهبود دینامیک لقاح *in vitro* مدل‌سازی شده‌اند (۱۱-۱۳). برخی سیستم‌ها محیط‌های سیال پویای لوله فالوپ را برای ارتقای رشد جنین شبیه‌سازی می‌کنند، در حالی که برخی دیگر بر جابه‌جایی دقیق تک‌جنین و کشت کم‌حجم تمرکز دارند تا شرایط *in vivo* را بهتر تقلید کنند (۱۱). استراتژی‌های دی‌الکتروفوریتیک (Dielectrophoretic) و الکتروکیتیک در دستگاه‌های میکروسیالی ART برای تعیین موقعیت اسپرم و اووسیت جهت لقاح رایج هستند، به‌طوری که از دی‌الکتروفورز مثبت برای به دام انداختن و متمرکز کردن گامت‌ها در نزدیکی اووسیت استفاده می‌شود و بدین ترتیب، به‌ویژه در شرایط محدودیت تعداد اسپرم، تلاش می‌شود احتمال لقاح افزایش یابد. مطالعات بیوفیزیکی تطبیقی گزارش می‌دهند که دستکاری مبتنی بر دی‌الکتروفورز می‌تواند نرخ لقاح یا رشد جنین را در مدل‌های موشی افزایش دهد، اگرچه انتقال این مطالعات در بررسی‌های بالینی در انسان همچنان با نتایج متفاوتی همراه بوده است (۱۴). مفاهیم یکپارچه lab-on-a-chip برای پیوند دادن جداسازی اسپرم، دستکاری اووسیت، لقاح و کشت جنین در یک دستگاه واحد پیشنهاد شده‌اند که به‌طور بالقوه باعث کاهش کار دستی، خطر آلودگی و تنوع عملکرد اپراتورها می‌شود، در حالی که حجم معرف‌ها را کاهش داده و پایش خودکار و تعویض محیط کشت را امکان‌پذیر می‌سازد (۱۲، ۱۳).

جداسازی اسپرم به روش میکروسیالی به‌عنوان جایگزین یا مکملی بالقوه برای سانتریفیوژ گرایان چگالی (Density gradient centrifugation) و روش swim-up است، با این هدف که شکستگی

انسانی محدود (۱۶). برای رویکردهای یکپارچه IVF-on-a-chip، دستگاه‌هایی برای تعیین موقعیت نکاووسیت‌ها، انجام لقاح با اسپرم‌های متحرک، و سپس کشت جنین‌ها با تعویض خودکار یا نیمه‌خودکار محیط کشت توسعه یافته‌اند که در برخی مطالعات حیوانی نرخ‌های لقاح و تشکیل بلاستوسیت قابل مقایسه‌ای با روش‌های متداول نشان می‌دهند، در حالی که مطالعات انسانی آن همچنان محدود است اما در اصل برای کاهش جابه‌جایی دستی و بهبود تکرارپذیری نویدبخش می‌باشد (۱۲، ۱۳).

در مطالعات بالینی انسانی، بخش عمده‌ای از مطالعات تصادفی و کنترل شده که انتخاب اسپرم به روش میکروسیالی برای ICSI و IVF را بررسی می‌کنند، نتایج متناقضی گزارش کرده‌اند؛ به‌طوری که نرخ لقاح اغلب مشابه روش‌های متداول است، در حالی که برخی مطالعات کیفیت بالاتر جنین یا افزایش تعداد جنین‌های با کیفیت عالی مناسب برای انجماد را نشان می‌دهند، اما زمانی که جداسازی میکروسیالی اسپرم به‌موازات پروتکل‌های استاندارد استفاده می‌شود، نرخ بارداری بالینی و تولد زنده به‌طور کلی بهبود چشمگیر و پایداری را نشان نمی‌دهند. اجماع بر این است که در حال حاضر شواهد محکمی که نشان‌دهنده برتری نرخ تولد زنده با استفاده از میکروسیالات در عملکرد روتین باشد، وجود ندارد. آنالیزهای تطبیقی در چشم‌اندازهای گسترده‌تر اتوماسیون ART تأکید می‌کنند که میکروسیالات می‌توانند به عملکردهای استاندارد شده، کاهش وابستگی به اپراتور و هم‌افزایی‌های بالقوه اتوماسیون کمک کنند، با این حال، رویکردهای خودکار lab-on-a-chip برای روندهای کاری کامل ART هنوز به عملکرد بالینی استاندارد تبدیل نشده‌اند و اعتبارسنجی‌های مستمر و ملاحظات مقرراتی به‌عنوان موانعی برای پذیرش روتین ذکر می‌شوند (۱۳).

مسیر گسترده‌تر، سیستم‌های ovary-oviduct-uterus-on-a-chip (تخم‌دان-لوله فالوپ-رحم روی چیپ) را برای مطالعه فیزیولوژی تولیدمثل و امکان‌سازی مدل‌سازی جامع‌تر متصور است که به‌طور بالقوه می‌تواند بدون نیاز به مطالعات بالینی فوری، بهینه‌سازی ART را هدایت کند و این پیشرفت‌ها ممکن است در نهایت از شرایط کشت و ارزیابی مرتبط‌تر با فیزیولوژی در ART انسانی پشتیبانی کنند (۱۳). رویکردهای میکروسیالی در ART پتانسیل قابل توجهی برای ارتقای انتخاب اسپرم، جابه‌جایی اووسیت، لقاح، کشت جنین و اتوماسیون در روندهای کاری IVF و ICSI ارائه می‌دهند. شواهد تا به امروز نشان می‌دهد که جداسازی اسپرم به روش میکروسیالی می‌تواند کیفیت جنین را بهبود بخشیده یا شکستگی DNA را در برخی مطالعات کاهش دهد، اما اثبات مداوم بهبود در

DNA کاهش یابد، جمعیت‌های متحرک انتخاب شوند و روندهای کاری IVF و ICSI تسهیل گردند. بینش‌های فراتحلیلی تأکید می‌کنند که اگرچه جداسازی میکروسیالی در برخی مطالعات می‌تواند اسپرم‌هایی با یکپارچگی DNA مطلوب را غنی‌سازی کند، اما بهبود پایداری در نرخ‌های لقاح، بارداری بالینی، یا تولد زنده در جمعیت‌های انتخاب‌نشده بیماران به‌طور یکنواخت اثبات نشده است، که این امر منجر به پذیرش بالینی محتاطانه شده است. مطالعات انسانی آینده‌نگر و گذشته‌نگر نتایج متناقضی نشان داده‌اند؛ به‌طوری که جداسازی میکروسیالی اسپرم گاهی اوقات تعداد بیشتری جنین با کیفیت بالا یا دستاوردهای متوسطی در پیامدهای بالینی به همراه داشته است، اما چندین کارآزمایی با طراحی تخمک‌های خواهر یا طراحی موازی، هیچ بهبود از نظر آماری معناداری را در نرخ‌های لقاح، بارداری یا تولد زنده در مقایسه با آماده‌سازی متداول اسپرم گزارش نکرده‌اند، هرچند برخی مطالعات به افزایش کیفیت یا کاهش شکستگی DNA در جنین‌های منتخب اشاره (۱۳). نمونه‌های بزرگ تصادفی شده چندمرکزی که جداسازی میکروسیالی اسپرم را در برابر شستشوی استاندارد ارزیابی می‌کنند، به‌طور کلی هیچ تفاوت از نظر آماری معناداری را در نرخ لقاح، بارداری بالینی یا تولد زنده نشان نمی‌دهند، اگرچه یوپلوئیدی (Euploidy) و پیامدهای جنین‌های منتخب گاهی اوقات سیگنال‌هایی از مزیت را در شرایط بسیار کنترل‌شده نشان داده‌اند. پیشنهاد تحقیق حاکمی از مزایای بالقوه در کیفیت جنین در برخی موارد است، اما شواهد برای بهبود پیامدهای بالینی در جمعیت‌های انتخاب‌نشده غیرقطعی است و پیش از آنکه پذیرش بالینی به یک روش استاندارد تبدیل شود، نیاز به کارآزمایی‌های استانداردتر با توان آماری کافی است (۱۲).

دستگاه‌های میکروسیال قابلیت‌هایی را برای به دام انداختن، عریان‌سازی (Denudation) و دستکاری اووسیت در ریزمحیط‌های کنترل‌شده نشان داده‌اند، به‌طوری که برخی طراحی‌ها بخش‌های لوله فالوپ را تقلید می‌کنند تا از لقاح طبیعی با نیاز کمتر به اسپرم پشتیبانی کنند، در حالی که برخی دیگر امکان کشت تک‌جنین را در قطرات پویا (Dynamic droplets) یا پلتفرم‌های میکروسیالات دیجیتال برای پایش رشد فراهم می‌آورند (۱۵). استراتژی‌های توانمندشده با دی‌الکتروفورز توانایی تمرکز اسپرم در نزدیکی اووسیت و امکان لقاح درون قطرات یا محفظه‌های میکروسیالی را به نمایش گذاشته‌اند؛ با نرخ‌های لقاح گزارش‌شده در مدل‌های موشی که تحت تعداد اسپرم برابر، اغلب نزدیک به IVF متداول بوده یا اندکی از آن فراتر می‌روند و رشد جنین تا مرحله بلاستوسیت در چندین سیستم نشان داده شده است، هرچند در مدل‌های غیرانسانی یا

نرخ لقاح، بارداری بالینی و نرخ تولد زنده در جمعیت‌های انسانی انتخاب نشده همچنان محدود است. آرمان گسترده‌تر، حرکت به سوی سیستم‌های یکپارچه lab-on-a-chip است که چندین مرحله ART را با پایش حلقه بسته (Closed-loop) خودکار می‌کنند و از مفاهیم اتوماسیون و Organ-on-a-chip برای بهینه‌سازی شرایط کشت و ارزیابی جنین بهره می‌گیرند. با این حال، اعتبارسنجی بالینی چندمرکزی قدرتمند و همسویی مقرراتی، از پیش‌نیازهای پذیرش گسترده بالینی هستند. پیشینه تحقیق کنونی از یک خوش‌بینی محتاطانه پشتیبانی می‌کند: میکروسیالات می‌توانند حجم معرف‌ها را کاهش دهند، جابه‌جایی را استاندارد کنند و پردازش دقیق‌تر گامت و جنین را ممکن سازند، اما شواهد قطعی از پیامدهای برتر در تولد زنده در جمعیت‌های متنوع بیماران، در انتظار کارآزمایی‌های کنترل‌شده و مقیاس‌بزرگ و توسعه پلتفرم‌های یکپارچه است (۱۱، ۱۳).

۳- رویکردهای میکروسیالی در پژوهش تخمدان و حفظ باروری،

Follicle-on-a-Chip تا سیستم‌های یکپارچه اندام‌های تولیدمثلی

بلوغ (Maturation)

فناوری‌های میکروسیالی با امکان‌پذیر ساختن کنترل دقیق بر محیط کشت فولیکول‌ها و بافت تخمدان، پژوهش‌های تخمدان و حفظ باروری را به‌طور پیش‌رونده‌ای دگرگون کرده‌اند (جدول ۱ و شکل ۲). اولین دستگاه‌های میکروسیالی متمرکز بر تخمدان در اواسط دهه ۲۰۱۰ ظهور کردند، با پلتفرم‌هایی مانند چیپ میکروسیالی قطره آویزان (hanging-drop) که توسط Skory و همکاران معرفی شد؛ این سیستم معماری فولیکول موش را در یک سوسپانسیون سه‌بعدی نیمه‌ایستا به مدت ۸ روز حفظ کرد و به نرخ‌های بلوغ اووسیت MII قابل مقایسه با کپسوله‌سازی آلزینات، بدون نیاز به مواد داربست خارجی دست یافت (۱۷).

Aziz و همکاران، یک چیپ پرفیوژن مبتنی بر PDMS را معرفی کردند که برای کشت یک فولیکول پره‌آنترال انسانی کپسوله شده در هیدروژل آلزینات تحت شرایط جریان لایه‌ای پیوسته (Continuous laminar flow) به مدت ۸ تا ۱۲ روز طراحی شده بود. این کار بنیادین، بهبود بقا و رشد فولیکول را در مقایسه با کشت ایستا، در کنار حفظ فعالیت هورمونی نشان داد و در نتیجه مفهوم follicle-on-a-chip تخمدانی را پایه‌گذاری کرد (۱۸). با تکیه بر این پایه‌ها، پلتفرم‌های بعدی پرفیوژن پویا را برای فولیکول‌های جداشده و بافت قشر تخمدان در گونه‌های مختلف بررسی کردند و نشان دادند که پرفیوژن به‌طور جهانی برتری ندارد و پاسخ‌های گونه‌ویژه (species-specific) باید راهنمای بهینه‌سازی پارامترها باشند. متعاقباً، Thuwanut و همکاران یک دستگاه بدون پمپ میکروسیالی هیدروستاتیک اصلاح‌شده را روی بافت‌های قشر تخمدان موش

به مدت ۴ روز به کار بردند که رشد فولیکول اولیه را در مقایسه با سیستم‌های متداول با استفاده از جریان ناشی از فشار هیدروستاتیک بدون پمپ‌های خارجی به‌طور معناداری افزایش داد و به‌عنوان یک نمونه اولیه با طراحی اولیه در دسترس معرفی شد (۱۹).

یک جهش چشمگیر با چیپ‌های تولیدمثلی چنداندامی مانند پلتفرم EVATAR که توسط Xiao و همکاران توسعه یافت، به وجود آمد؛ این پلتفرم ماژول‌های تخمدانی را با بخش‌های لوله فالوپ، رحم، دهانه رحم و کبد که از طریق جریان میکروسیالی گردش‌ی (recirculating) مشترک با استفاده از داربست‌های اختصاصی هر اندام از جنس Matrigel/fibrin به هم متصل شده بودند، یکپارچه کرد. این سیستم به‌هم‌پیوسته، پروفایل‌های هورمونی استرادیول و پروژسترون مشابه چرخه قاعدگی ۲۸ روزه و ارتباطات متقابل (cross-talk) غدد درون‌ریز دوطرفه میان ماژول‌های اندام‌ها را نشان داد، که بیانگر مسیر حرکت از کشت تخمدان جدا شده به سوی غدد درون‌ریز تولیدمثلی یکپارچه روی یک چیپ است (۲۰).

رویکردهای زیست‌تقلیدی (Biomimetic) با استفاده از میکروسیالات مبتنی بر امولسیون core-shell پدیدار شدند. Weng از یک دستگاه متمرکزکننده جریان (Flow-focusing) برای تولید قطراتی با هسته کلاژن و پوسته آلزینات استفاده کرد که به‌طور مکانیکی قشر تخمدان را تقلید می‌کردند. فولیکول‌های پره‌آنترال موش که در این سیستم‌ها به مدت ۱۲ روز کشت داده شدند، با تشکیل آنتروم تا مراحل آنترال رشد کردند و پیکربندی‌های بهینه‌شده پس از بلوغ in vitro منجر به تولید اووسیت‌های MII شدند، که نشان می‌دهد کپسوله‌سازی میکروسیالی می‌تواند فولیکول‌زایی in vitro به‌سوی نقاط پایانی بلوغ بالینی مرتبط پیش برد (۱۲). در بسط این مفهوم core-shell، Healy و همکاران (۲۰۲۱) کپسول‌های میکروسیالی core-shell را با ترکیب کلاژن و آلزینات برای ایجاد فولیکول‌های مصنوعی سه‌بعدی توسعه دادند و بیش از ۷۸ درصد بقای سلولی را در ۲۷ روز کشت با جریان کنترل‌شده، به همراه بخش‌بندی فضایی (Compartmentalization) صحیح و عملکرد غدد درون‌ریز دست‌نخورده از جمله ترشح استرادیول، پروژسترون و آندروستندیون به اثبات رساندند (۲۱).

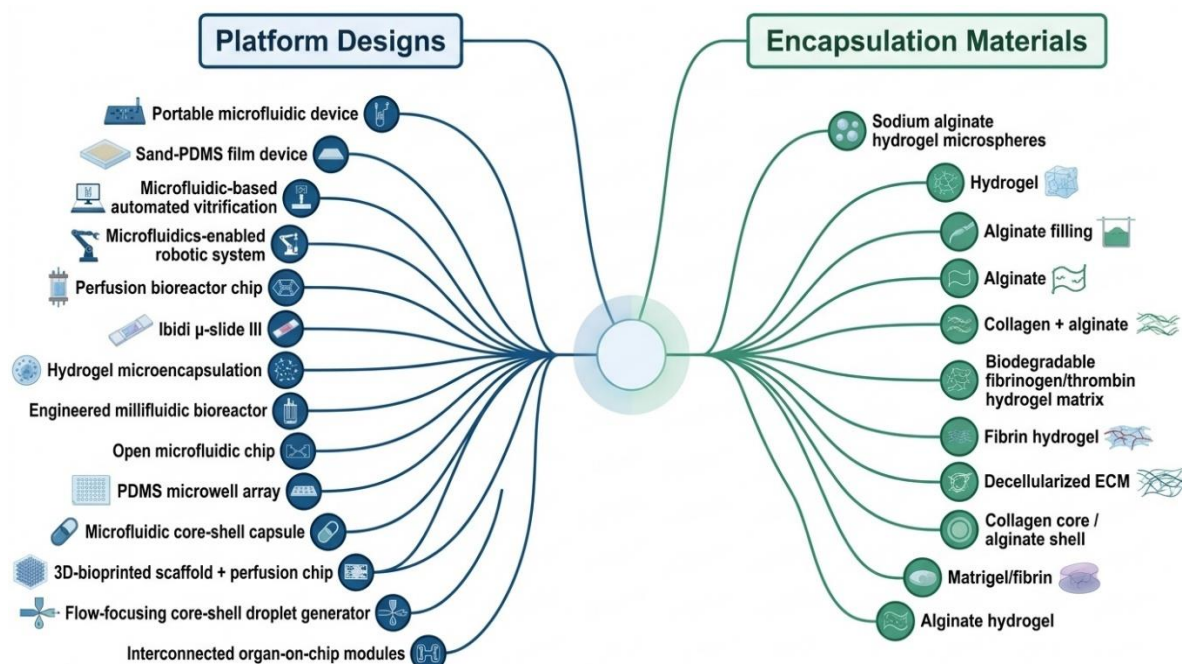
بهینه‌سازی مسیرها و شدت جریان سیالات، در زنده مانی فولیکول‌های تخمدان ثابت شده است. Choi و همکاران، یک چیپ پرفیوژن چاپ سه‌بعدی طراحی کردند که جریان ضربانی (Pulsatile flow) تقلیدکننده از عروق تخمدان را در مدت ۱۰ روز به فولیکول‌های موش کپسوله‌شده در هیدروژل فیبرین ارائه می‌داد. این رژیم ضربانی تکثیر سلول‌های گرانولوزا و شایستگی رشدی اووسیت را در مقایسه با جریان پیوسته افزایش داد و این امر نشان می‌دهد که

جدول ۱. خلاصه‌ای از مطالعات میکروسیالات بر بافت تخمدان در کارایی و کیفیت باروری

مطالعه	گونه	نوع بافت	طراحی پلتفرم	مدت کشت	شرایط جریان	ماده کپسوله‌سازی	نقاط پایانی	یافته‌های کلیدی	منبع
Shen و همکاران (۲۰۲۵)	موش	اووسیت MII	سامانه سه کاناله	-	قطره‌ای میکروسیال	آلژینات	نرخ بقا، شکافت، بلاستوسیت، تغییرات حجم	عملکرد بهینه (OHMs 262µm + 10% DMSO + 8min) در مقایسه با Cryotop؛ کاهش استرس اسمزی	(۴۳)
Zhan و همکاران (۲۰۲۵)	موش	اووسیت	دستگاه پرتابل با ترانزیستور	-	جریان فشار ثابت	ندارد	به‌دام‌اندازی خودکار، بارگذاری خطی CPA	خودکارسازی بارگذاری CPA؛ کاهش هزینه و تغییرپذیری اپراتور	(۴۸)
Stewart و همکاران (۲۰۲۴)	موش	فولیکول Preantral	دستگاه فیلمی Sand-PDMS	۹ روز	ندارد	ندارد	دمای هسته‌زایی، زنده‌مانی، رشد	هسته‌زایی یخ کارآمد؛ رشد قابل مقایسه با کنترل تازه؛ حذف نیاز به فریزر برنامه‌پذیر	(۴۴)
Miao و همکاران (۲۰۲۳)	خوک	اووسیت فعال‌شده	سامانه روباتیک	۲ هفته	شیر فشار-محور	ندارد	نرخ بقا، کیفیت جنین، توسعه	موقعیت‌دهی قابل اطمینان جنین؛ کیفیت بالای جنین‌های vitrify شده روباتیک	(۴۶)
Del Valle و همکاران (۲۰۲۲)	انسان	بافت قشری	بیوراکتور پرفیوژنی	۵-۷ روز	پرفیوژن پویا	ندارد	زنده‌مانی استرومایی، AMH/استرادیول	حفظ تراکم فولیکول و معماری استروما برتر از کنترل استاتیک	(۲۵)
Thuwant و همکاران (۲۰۲۲)	موش	بافت قشری	دستگاه بدون پمپ	۴ روز	هیدرواستاتیک	ندارد	مورفولوژی، تراکم، بیان ژن	افزایش معنادار توسعه فولیکول اولیه نسبت به روش مرسوم	(۱۹)
Tian و همکاران (۲۰۲۲)	موش	فولیکول Preantral	میکروکپسوله‌سازی	—	ندارد	هیدروژل	زنده‌مانی، تشکیل حفره، نرخ تولد	بهبود زنده‌مانی با میکروکپسوله‌سازی و nanowarming نسبت به حمام آب	(۴۵)
Mastrorocco و همکاران (۲۰۲۲)	گوسفند	کمپلکس COC	بیوراکتور Millifluidic	۲۴ ساعت	استاتیک	آلژینات	بلوغ، میتوکندری، ROS	حفظ نرخ بلوغ و بهبود وضعیت اکسیداتیو؛ محافظت در برابر تنش برشی	(۲۴)
Miao و همکاران (۲۰۲۲)	موش	اووسیت GV/MII	تراشه باز	—	گرادیانی	ندارد	نرخ بقا، ROS، MMP	موفقیت ۱۰۰٪ vitrification؛ بقای قابل مقایسه با روش دستی	(۴۲)
Ferreira و همکاران (۲۰۲۱)	گاو	فولیکول Preantral	آرایه microwell	۱۴ روز	جریان گرانشی	آلژینات	بقا، تشکیل antrum، استروئیدزایی	قالب microwell با توان عملیاتی بالا؛ تشکیل antrum در < ۶۰٪ فولیکول‌ها	(۲۳)
Healy و همکاران (۲۰۲۱)	موش	فولیکول مصنوعی	کپسول Core-shell	۲۷ روز	جریان کنترل‌شده	کلاژن + آلژینات	زنده‌مانی، E2، پروژسترون	زنده‌مانی < ۷۸٪ در ۲۷ روز؛ حفظ عملکرد اندوکرین	(۲۱)

جدول ۱. خلاصه‌ای از مطالعات میکروسایالات بر بافت تخمدان در کارآیی و کیفیت باروری (ادامه)

مطالعه	گونه	نوع بافت	طراحی پلتفرم	مدت کشت	شرایط جریان	ماده کپسوله‌سازی	نقاط پایانی	یافته‌های کلیدی	منبع
Thuwanut و همکاران (۲۰۲۱)	گرهه	بافت قشری	کپسوله‌سازی	۷ روز	متغیر	هیدروژل فیبرین	زنده‌مانی، VEGF	انجماد آهسته با فیبرینوژن ۱۰ mg/mL؛ نتایج مشابه کشت استاتیک و غیر استاتیک	(۴۰)
Choi و همکاران (۲۰۲۰)	موش	فولیکول	تراشه پرفیوژن	۱۰ روز	جریان ضربانی	هیدروژل فیبرین	رشد، تکثیر، شایستگی	جریان ضربانی افزایش‌دهنده تکثیر سلول گرانولوزا	(۲۲)
Guo و همکاران (۲۰۱۹)	خوک	اووسیت MII	بارگذاری خطی CPA	-	جریان پیوسته	ندارد	تغییرات حجم، نرخ بقا	کاهش آسیب استرس اسمزی نسبت به روش‌های مرحله‌ای	(۴۱)
Laronda و همکاران (۲۰۱۷)	موش	فولیکول	scaffold زیست‌چاپ	۷ روز	جریان پیوسته	ECM سلول‌زدایی شده	جای‌گیری، رگ‌زایی، ترشح هورمون	پشتیبانی از جای‌گیری فولیکول؛ پتانسیل ترمیم باروری	(۲۶)
Weng (۲۰۱۹)	موش	فولیکول	مولد قطره Core-shell	۱۲ روز	جریان قطره‌ای	کلاژن آلترنات	انtrum مورفولوژی، تشکیل antrum	تشکیل antrum در آشیانه زیست‌تقلیدی؛ بازایی اووسیت MII	(۱۲)
Zhao و همکاران (۲۰۱۷)	انسان	اووسیت بالغ‌شده	پرفیوژن ساندویچی	۲۴-۴۰ ساعت	پمپ سرنگی	ندارد	نفوذپذیری، لقاح، تکوین	مشخصه‌یابی دقیق انتقال on-chip؛ حفظ شایستگی	(۳۸)
Xiao و همکاران (۲۰۱۷)	انسان/خوک	چند ارگانی	ماژول‌های چنداندازی	۲۸ روز	بازچرخشی مشترک	Matrigel/فیبرین	نمایه‌های هورمونی، هم‌سویی	بازآفرینی موفق چرخه هورمونی ۲۸ روزه؛ تعامل اندوکرین بین ارگانی	(۲۰)
Aziz و همکاران (۲۰۱۷)	انسان	فولیکول Preantral	تراشه پرفیوژن	۸-۱۲ روز	جریان آرام	هیدروژل آلترنات	بقا، نرخ رشد، استرادیول	بهبود بقا و رشد فولیکول نسبت به کشت استاتیک	(۳۶)
Skory و همکاران (۲۰۱۵)	موش	فولیکول	تراشه hanging-drop	۸ روز	جریان حداقلی	ندارد	مورفولوژی، بلوغ	حفظ معماری فولیکول؛ نرخ MII قابل‌مقایسه با کپسوله‌سازی	(۱۷)



شکل ۲. خلاصه‌ای از مطالعات میکروسیالات بر بافت تخمدان در کارآیی و کیفیت باروری در زمینه‌ی شایع‌ترین مواد کپسول‌کننده

و صفحه‌های میکروفلوئیدی

به مدت ۵ تا ۷ روز کشت دادند و نشان دادند که پرفیوژن پویا تراکم فولیکول و ساختاری استرومایی را برتر از کنترل‌های ایستا حفظ می‌کند. بافت قشر تخمدان انسانی انجماد-ذوب‌شده را روی پلیت‌های پرفیوژن 3D Ibidi μ -slide III به مدت ۴ یا ۸ روز تحت دو رژیم نرخ جریان کشت دادند. کشت پویا از رشد فولیکول ثانویه پشتیبانی کرد اما با کارایی پایین؛ نرخ‌های جریان بالاتر القاکننده آپوپتوز استرومایی بودند، در حالی که شرایط ایستا رسوب کلاژن را افزایش دادند، و به‌طور کلی این پلتفرم فولیکول‌زایی اولیه را نسبت به کنترل‌های ایستا بهبود نبخشید، که این امر بر نیاز به بهینه‌سازی دقیق جریان در کاربردهای بافت انسانی تأکید می‌کند (۲۵).

اخیراً، مدل‌های تخمدانی چاپ سه‌بعدی که با پرفیوژن میکروسیالی یکپارچه شده‌اند، به‌عنوان پلتفرم‌هایی مستقل از پیوند (Transplantation-agnostic) برای حفظ باروری پدیدار شده‌اند. Laronda و همکاران، یک داربست چاپ زیستی سه‌بعدی (3D-Bioprinted scaffold) ترکیب‌شده با یک چیپ پرفیوژن با استفاده از ماتریکس خارج‌سلولی سلول‌زدایی‌شده را توسعه دادند و نشان دادند که داربست‌های تخمدانی سلول‌زدایی‌شده از پیوند (Engraftment) فولیکول همراه با نشانگرهای رگ‌زایی و ترشح هورمون در طی ۷ روز پرفیوژن پیوسته پشتیبانی می‌کنند، که به کاربردهای بالقوه برای بازایی باروری بدون نیاز به کاشت مجدد بافت‌های دارای پتانسیل بدخیمی اشاره دارد (۲۶).

الگوهای همودینامیک زیست‌تقلیدی، فولیکول‌زایی *in vitro* را فراتر از آنچه پرفیوژن حالت پایدار (steady-state) می‌تواند به دست آورد، بهبود می‌بخشند (۲۲). در رویکردی متفاوت که توان عملیاتی (Throughput) را در اولویت قرار می‌داد، Ferreira و همکاران، یک آرایه میکروچاهک (Microwell array) از جنس PDMS با جریان غیرفعال ناشی از گرانش (Gravity-driven passive flow) را برای فولیکول‌های پره‌آنترال گاو کپسوله شده در آلژینات توسعه دادند و به تشکیل آنتروم در بیش از ۶۰ درصد فولیکول‌ها در طی ۱۴ روز در فرمتی مقیاس‌پذیر برای کاربردهای غربالگری دارو دست یافتند (۲۳). برای سلول‌های تولیدمثلی بزرگ‌تر، Mastorocco و همکاران، یک بیوراکتور میلی‌سیالی (Millifluidic) را برای کمپلکس‌های کومولوس-اووسیت گوسفند مهندسی کردند و دریافتند که جریان پویای بومی (Native dynamic flow)، بلوغ و فعالیت میتوکندریایی را مختل می‌کند، در حالی که اینسرت‌های مقعر (Concave inserts) با پشتیبانی حلقه‌ای و پر شده با آلژینات، ضمن بهبود وضعیت بیوانرژتیک و اکسیداتیو، نرخ‌های بلوغ و الگوهای توزیع میتوکندری را حفظ کردند. دینامیک سیالات محاسباتی (Computational fluid dynamics) تأیید کرد که اینسرت‌ها ضمن حفظ انتشار اکسیژن فیزیولوژیک، از COC ها در برابر تنش برشی محافظت می‌کنند (۲۴). در مطالعات بالینی انسانی، Valle و همکاران، نوارهای بافت قشر تخمدان انسانی را روی یک چیپ بیوراکتور پرفیوژن پویا (۲-۰/۵ میکرولیتر در دقیقه)

تخمندان یکی از پیچیده‌ترین ریزمحیط‌ها (Microenvironments) در زیست‌شناسی تولیدمثل ارائه می‌دهد که نیازمند سیستم‌های کشتی است که بتوانند رشد فولیکول را حفظ کنند، از ترشح هورمون پشتیبانی کنند و سیگنال‌دهی پویای غدد درون‌ریز را بازآفرینی نمایند (۲۷). فناوری‌های میکروسایالات به‌عنوان ابزارهایی قدرتمند برای پاسخگویی به این نیازها ظهور کرده‌اند و کنترل دقیقی بر جریان سیال، رساندن مواد مغذی و نشانه‌های مکانیکی (Mechanical cues) ارائه می‌دهند که کشت‌های ظرفی (dish cultures) ایستا قادر به بازآفرینی آن‌ها نیستند. کار بنیادین Aziz و همکاران، امکان‌پذیری کشت فولیکول‌های تخمدانی انسانی منفرد کپسوله‌شده در کلسیم آلزینات را روی یک چیپ میکروسایالاتی ثابت کرد و بقا، روندهای ترشح هورمونی و رشد فولیکول قابل مقایسه‌ای با کشت ظرفی متداول را نشان داد (۱۸). این مطالعه الگو، راه را برای پلتفرم‌های follicle-on-a-chip باز کرد و الهام‌بخش بررسی‌های بعدی در پرفیوژن پویا به‌عنوان وسیله‌ای برای حفظ عملکرد غدد درون‌ریز در واحدهای تخمدانی مهندسی‌شده گردید. پرفیوژن میکروسایالاتی پویا نوید قابل‌توجهی برای حفظ بقای فولیکول و خروجی غدد درون‌ریز در چندین گونه نشان داده است.

Valle و همکاران، با نشان دادن اینکه کشت پویای بافت قشر تخمدان انسانی انجام‌دهنده در رژیم‌های جریان آزمایش‌شده آن‌ها فولیکول‌زایی اولیه را بهبود بخشید، این تصویر را ظریف‌تر کردند و تأکید نمودند که بهینه‌سازی پارامترهای جریان، وابسته به بافت و شرایط است و سیستم‌های پویا هنوز به‌طور جهانی از کنترل‌های ایستا عملکرد بهتری ندارند. مرورهای گسترده‌تر این یافته‌های متناقض را سنتز کرده و خاطرنشان می‌کنند که اگرچه پلتفرم‌های میکروسایالاتی منبع پیوسته‌ای از مواد مغذی و هورمون را در کنار محیط‌های برشی (Shear environments) فراهم می‌کنند که می‌توانند بر فعال‌سازی فولیکول و خروجی غدد درون‌ریز تأثیر بگذارند، اما نیاز به پروتکل‌های استانداردشده همچنان به شدت احساس می‌شود (۲۵).

از جمله پیشرفت‌های عمده در این حوزه، توسعه چیپ‌های تولیدمثلی چنداندامی بوده است که ماژول‌های تخمدانی را با اجزای لوله فالوپ، رحم، دهانه رحم و کبد یکپارچه می‌کنند. پلتفرم EVATAR نمونه بارز این رویکرد است که ارتباطات متقابل غدد درون‌ریز دوطرفه و یک پروفایل هورمونی شبیه چرخه قاعدگی ۲۸ روزه را در میان ماژول‌های اندام‌های بهم‌پیوسته بازآفرینی می‌کند و چارچوبی برای زیست‌شناسی سیستمیک تولیدمثل و مطالعات سم‌شناسی فراهم می‌آورد (۲۸-۳۱). بیشتر ارتباطات متقابل غدد درون‌ریز دوطرفه میان تخمدان و رحم را روی یک چیپ دواندامی

(Dual-organ chip) نشان داد که مفهوم فیزیولوژی تولیدمثل یکپارچه روی پلتفرم‌های میکروسایالاتی را به پیش می‌برد و آگاهی می‌بخشد که چگونه سیگنال‌های بلوغ فولیکول ممکن است با پذیرش آندومتر (Endometrial receptivity) در یک سیستم میکروفیزیولوژیک پیوسته جفت شوند (۲۸، ۳۱). مرورهای انجام‌شده توسط Deng و همکاران (۳۲) و Mancini و Pensabene (۳۳) این پیشرفت‌ها را در چارچوب گسترده‌تر Organ-on-a-chip اندام‌های تولیدمثلی زنانه قرار داده و درباره معماری‌های دستگاه، اندوتلیالیزاسیون (Endothelialization)، ملاحظات رگ‌زایی، و چالش‌های پایدار در استاندارد سازی و مطالعات بالینی بحث می‌کنند (۳۲، ۳۳).

طراحی زیست‌مواد (Biomaterial) برای بازآفرینی ناهمگنی مکانیکی (Mechanical heterogeneity) ریزمحیط تخمدان در مرکز توجه قرار دارد. معماری‌های بافت‌میکرو (Microtissue) به شکل core-shell مانند هسته‌های کلاژن با پوسته‌های آلزینات، معماری قشر تخمدان را تقلید کرده و نشان داده شده است که بر رشد و بلوغ فولیکول در زمینه‌های میکروسایالاتی تأثیر می‌گذارند. کپسوله‌سازی فولیکول‌های انسانی با آلزینات، همان‌طور که توسط Aziz و همکاران، پیشگامی شد، جریان پویا را قادر می‌سازد تا محیطی فیزیولوژیک نسبت به شرایط ایستا فراهم کند و از کشت بلندمدت بافت‌میکروهای تخمدانی به‌عنوان گامی حیاتی به‌سوی فولیکول‌زایی in vitro برای حفظ باروری پشتیبانی نماید (۳۶). Dadashzadeh و همکاران، بیشتر مسیرهای زیست‌مواد را برای مهندسی بافت تخمدان ترسیم می‌کنند و ماتریکس‌های هیدروژل، راهبردهای رگ‌زایی و طراحی‌های داربست را برجسته می‌سازند که ادغام با میکروسایالات و بلوغ فولیکول تحت پرفیوژن را آگاهی می‌بخشد (۳۴). پیگیری رشد in vitro فولیکول‌های انسانی روی چیپ‌های میکروسایالاتی به‌ویژه برای حفظ باروری در بیماران مبتلا به سرطان که تحریک تخمدان ممکن است در آن‌ها امکان‌پذیر نباشد، مرتبط است. کشت پویا که باعث ارتقای فعال‌سازی و بلوغ فولیکول می‌شود، در ترکیب با کپسوله‌سازی در ماتریکس‌های آلزینات یا کلاژن، دارای پتانسیل تولید اوسیت‌های بالغ برای کمک‌باروری است، اگرچه چالش‌ها پیرامون بقای بلند مدت، ملاحظات مقرراتی و کارآزمایی بالینی همچنان قابل‌توجه هستند (۲۹، ۳۵). تلاقی داربست‌های چاپ سه‌بعدی و رویکردهای مهندسی بافت تخمدان با پرفیوژن میکروسایالاتی، بقای فولیکول و تولید هورمون را حتی با وجود محدودیت‌های مختص به گونه و پروتکل اجرایی آن، بهبود می‌بخشد (۳۰، ۳۱).

با وجود این پیشرفت‌ها، اعمال این مطالعات در کارآزمایی بالینی محدود باقی مانده است. مدل‌های پستانداران غیرانسانی بیش‌های مکانیستی حیاتی فراهم کرده‌اند، با این حال تفاوت‌های گونه‌ای و

بین جمعیت‌های انتخاب‌نشده نشان نداده‌اند، که این امر بر نیاز به کارآزمایی‌های بالینی تصادفی‌شده چندمرکزی مقیاس‌بزرگ با تولد زنده به‌عنوان نقطه پایانی اولیه تأکید می‌کند. رویکردهای یکپارچه lab-on-a-chip که جابه‌جایی اووسیت، لقاح و کشت جنین را ترکیب می‌کنند، در مدل‌های حیوانی نتایج قابل مقایسه‌ای با روش‌های متداول نشان می‌دهند در حالی که جابه‌جایی دستی و تنوع اپراتور را کاهش می‌دهند، اما گذار به ابزارهای بالینی معتبر نیازمند کارآزمایی‌های انسانی دقیق و چارچوب‌های مقرراتی اختصاصی است.

انجماد (Freezing)

مطالعات میکروسیالات در حوزه بافت‌شناسی تخمدان و فناوری میکروسیال امروزه در زمینه انجماد نیز از اهمیت گسترده‌ای برخوردار است (۳۹). به عنوان مثال Thuwanut و همکاران نشان دادند که بافت قشر تخمدان گربه کپسوله‌شده در هیدروژل فیبرینژن/ترومبین (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر فیبرینژن ترکیب‌شده با انجماد کند) به بقای فولیکول، ریخت‌شناسی و فسفوریلاسیون پروتئین VEGF برتری پس از ذوب دست یافت، اگرچه کشت ایستا و غیرایستای پس از ذوب پیامدهای کیفیت فولیکولی مشابهی تولید کردند، که تأکید می‌کند شرایط جریان به‌طور کلی نتایج را در همه گونه‌ها بهبود نمی‌بخشد (۴۰). رویکردهای میکروسیالی برای انجماد (Cryopreservation) و انجماد شیشه‌ای (Vitrification) نشان‌دهنده یک مرز به سرعت در حال پیشرفت هستند. Guo و همکاران، نشان دادند که بارگیری پیوسته محافظ سرما به روش میکروسیالی برای اووسیت‌های MII خوک، آسیب ناشی از تنش اسمزی را در مقایسه با افزودن و حذف مرحله‌ای متداول کاهش می‌دهد، به‌طوری که مدت‌زمان‌های بهینه‌شده برای بارگیری و تخلیه، نرخ‌های بقا و رشد را بهبود می‌بخشد (۴۱).

Miao و همکاران، یک چیپ میکروسیالی باز (Open microfluidic chip) برای اووسیت‌های GV و MII موش توسعه دادند که از بارگیری گراد یانی CPA از طریق همرفت-انتشار (Convection-diffusion) استفاده می‌کند و به موفقیت ۱۰۰ درصد در انجماد شیشه‌ای با بقای قابل مقایسه با روش دستی Cryotop دست یافت، در حالی که تنوع عملکرد اپراتور را کاهش داده و اولین پلتفرمی را نشان می‌دهد که انتقال روی چیپ کرایوتاپ را یکپارچه کرده است (۴۲).

Shen و همکاران، این را با یک سیستم انجماد شیشه‌ای خودکار مبتنی بر میکروسیالات که عملکرد بهتری نسبت به روش‌های دستی Cryotop و سرمایش سریع در نرخ‌های بقا، تسهیم (Cleavage) و بلاستوسیت برای اووسیت‌های MII موش داشت، بیشتر ارتقا دادند؛ که در آن یک پروتکل ۴ بخشی با کاهش شوک اسمزی از طریق تزریق

محدودیت‌های مقیاس‌پذیری شکاف‌های مطالعاتی پایدار برای پیامدهای بالینی انسانی ایجاد می‌کند. اکثر بررسی‌های انسانی -ovary-on-a-chip، نقاط پایانی جایگزین (Surrogate endpoints) مانند پروفایل‌های ترشح هورمون، معیارهای رشد فولیکول و پتانسیل بلوغ اووسیت in vitro را گزارش می‌دهند تا پیامدهای تولد زنده از اووسیت‌های مشتق‌شده از چیپ (۲۹، ۳۱، ۳۶) با اولویت بالا هستند (۲۸، ۳۱، ۳۷). در زیست‌شناسی تخمدان، پلتفرم‌های follicle-on-a-chip رشد پایدار فولیکول انسانی را تحت پرفیوژن پویا نشان داده‌اند، در حالی که چیپ‌های چنداندامی مانند EVATAR پروفایل‌های هورمونی چرخه قاعدگی ۲۸ روزه و ارتباطات متقابل غدد درون‌ریز دوطرفه را بازآفرینی کرده‌اند. کپسوله‌سازی میکروسیالی به روش core-shell فولیکول‌زایی in vitro را تا تولید اووسیت MII در مدل‌های موشی پیش برده است که مسیرهای حفظ باروری مستقل از پیوند (Transplantation-agnostic) را برای بیماران سرطانی پیشنهاد می‌کند. موانع حیاتی باقی است: پرفیوژن پویا به‌طور جهانی از کشت ایستا عملکرد بهتری نداشته است، اکثر مطالعات انسانی به‌جای نقاط پایانی عملکردی، نقاط پایانی جایگزین را گزارش می‌دهند، و چالش‌های رابط انجماد (Cryopreservation interface)، کشت بلندمدت و رگ‌زایی هنوز حل نشده‌اند.

لقاح (Fertilization)

موازی با بهبود عملکرد تخمک در مطالعات مربوط به بلوغ، حوزه مطالعات در زمینه لقاح نیز گسترده است. Zhao و همکاران، یک دستگاه پرفیوژن با ساختار ساندویچی (Sandwich-structured) متشکل از دو لایه شیشه‌ای سیلیکایی و دو ورق لاستیک سیلیکونی توسعه دادند که مشخصه‌یابی (Characterization) دقیق روی چیپ نفوذپذیری غشاء و پاسخ‌های اسمزی اووسیت‌های بالغ‌شده in vitro انسانی را به محافظ‌های سرما (Cryoprotectants) مانند ترهالوز، اتیلن گلیکول و پروپیلن گلیکول امکان‌پذیر ساخت، در حالی که لقاح و شایستگی رشدی پس از ICSI حفظ شد (۳۸).

Weng و همکاران، روندهای کاری عریان‌سازی اووسیت روی چیپ (on-chip oocyte denudation) را در موش‌ها توسعه دادند که نشان می‌دهد چگونه میکروسیالات می‌توانند آماده‌سازی اووسیت پیش از لقاح تسهیل کنند و به‌عنوان یک قابلیت پیش‌نیاز برای سیستم‌های یکپارچه ovary-on-a-chip که شامل مراحل استخراج و بلوغ فولیکول هستند، عمل نمایند (۱۲). در ART، جدا سازی اسپرم به روش میکروسیالی، که به‌طور گسترده‌تر از نظر بالینی ارزیابی شده است، می‌تواند اسپرماتوزوای متحرک با DNA سالم را غنی‌سازی کرده و کیفیت جنین را در برخی مطالعات بهبود بخشد؛ با این حال، نرخ لقاح، نرخ بارداری بالینی و نرخ تولد زنده بهبود پایداری را در

(Dehydration) با محلول انجماد شیشه‌ای و استخراج اووسیت را با استفاده از منابع فشار ثابت انجام می‌دهد و با کاهش هزینه، افزایش دسترسی و به حداقل رساندن تنوع عملکرد اپراتور به‌عنوان گامی به‌سوی یک IVEF-on-a-chip خودکار عمل می‌کند (۴۸). در مجموع، این پیشرفت‌ها منعکس‌کننده جعبه‌ابزاری در حال گسترش هستند که ساخت افزودنی (Additive manufacturing)، مهندسی organ-on-a-chip، بهینه‌سازی پرفیوژن پویا و روندهای کاری خودکار انجماد را ترکیب می‌کند تا ریزمحیط‌های تخمدانی مرتبط با فیزیولوژی ایجاد نماید. این حوزه از کشت ایستای تک‌فولیکولی به سوی سیستم‌های چنداندامی یکپارچه، رژیم‌های جریان بهینه‌شده برای گونه‌ها، راهبردهای کپسوله‌سازی زیست‌تقلیدی (Biomimetic) و پلتفرم‌های انجماد شیشه‌ای کاملاً خودکار پیشرفت کرده است، اگرچه استانداردهای پارامترهای جریان، اعتبارسنجی بالینی قدرتمند در انواع بافت‌های انسانی و چارچوب‌های مقرراتی پیش از پذیرش گسترده بالینی همچنان ضروری هستند.

در مسیر پایانی این مطالعه مروری، مشخص شد که مفاهیم میکروسیالات و ovary-on-a-chip این پتانسیل را دارند که فولیکول‌زایی و بلوغ تخمک را در محیط‌های کنترل‌شده شبیه‌سازی کنند و امکان ارزیابی فیزیولوژی تخمدان و پاسخ‌های آن به پروتکل‌های تحریک یا انجماد را فراهم آورند. مشخص شده است که این مدل‌ها از طریق آزمایش ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی و مدل‌سازی بیماری در محیط آزمایشگاهی با ژنتیک تولیدمثل تلاقی می‌یابند (۱۱). میکروسیالات، کشت ایستا را به محیط‌های پویا، کم‌حجم و از نظر فیزیولوژیک واقع‌بینانه‌ای تبدیل می‌کند که برای دستکاری، جداسازی و کشت تخمک و جنین مناسب‌اند و با کاهش تعداد سلول‌های موردنیاز، امکان تحلیل نمونه‌های بسیار اندک یا محیط کشت مصرف‌شده را فراهم می‌سازند. این حوزه از جداسازی اسپرم و کشت جنین به‌سوی سامانه‌های اندام روی تراشه پیشرفت کرده است که تخمدان، لوله رحمی، رحم و جفت را مدل‌سازی می‌کنند؛ سنسورهای یکپارچه و تصویربرداری تایم‌لپس از مورفوکینتیک و زیست‌شیمیایی پشتیبانی می‌کنند و دستکاری دی‌الکتروفوریتیک یا الکتریکی، جابه‌جایی دقیق و کم‌تنش را در مسیر دستیابی به یک آزمایشگاه کمک‌باروری کاملاً یکپارچه روی تراشه ارائه می‌دهد. انجماد همچنان یک استاندارد مراقبت است و بارگذاری و خروج میکروفولئوئیدیک محافظ‌های انجمادی، انجماد شیشه‌ای روی تراشه و سکوی قطره‌ای یا دیجیتال در پی کاهش تنش اسمزی و حرارتی، کاهش تشکیل بلورهای یخ و بهبود زنده‌مانی پس از ذوب هستند؛ طیف‌سنجی رامان و دیگر روش‌های غیرتهاجمی برای پیش‌بینی بلادرنگ موفقیت پس از ذوب پیشنهاد شده‌اند.

کنترل‌شده میکروسیالاتی بهترین عملکرد را نشان داد. اخیراً، Shen و همکاران، یک سیستم میکروسیالاتی ۳ کاناله را بهینه‌سازی کردند که میکروسفرهای هیدروژل سدیم آلزینات (با قطر ۲۶۲ میکرومتر) را برای انجماد شیشه‌ای اووسیت MII موش تولید می‌کند و نشان دادند که ترکیب بهینه با ۱۰٪ DMSO و بارگیری ۸ دقیقه‌ای، در نرخ‌های تسهیم و بلاستوسیسست عملکرد بهتری از Cryotop با استفاده از ۱۵٪ DMSO داشت و تنش اسمزی به مراتب کمتری ایجاد کرد که به‌طور مؤثری غلظت CPA و زمان بارگیری مورد نیاز را کاهش داد (۴۳). در تکمیل این پیشرفت‌های انجماد شیشه‌ای، Stewart و همکاران، یک دستگاه فیلم Sand-PDMS را برای هسته‌زایی یخ (ice nucleation) زیست‌سازگار و کارآمد در فولیکول‌های پره‌آنترال موش معرفی کردند که به بقای پس از ذوب بالاتری دست یافت و رشدی قابل مقایسه با کنترل‌های تازه در طی ۹ روز داشت که به‌طور بالقوه نیاز به فریزرهای با نرخ برنامه‌ریزی‌شده را از بین می‌برد (۴۴).

Tian و همکاران، بیشتر نشان دادند که کپسوله‌سازی میکرو با هیدروژل (Hydrogel microencapsulation) در ترکیب با گرمایش نانو (Nanowarming) در M CPA 1.5 به‌طور قابل توجهی بقای فولیکول پره‌آنترال موش را در مقایسه با گرمایش متداول حمام آب (Water-bath) بهبود بخشید، به‌طوری که نرخ تشکیل حفره، بازده اووسیت MII و نرخ تولد پس از IVF و انتقال جنین همگی قابل مقایسه با کنترل‌های تازه بودند (۴۵). به‌طور مشابه، Miao و همکاران، یک سیستم رباتیک توانمندشده با میکروسیالات را برای اووسیت‌های فعال‌شده پارتوژنتیک خوک با استفاده از یک سیستم دریچه‌ای (valve) ناشی از فشار معرفی کردند که به موقعیت‌یابی قابل اعتماد جنین در هر مرحله از انجماد شیشه‌ای دست یافت و جنین‌های منجمدشده با ربات، کیفیت بالا، بقای خوب و نرخ‌های رشد را پس از ذوب در طی یک دوره کشت ۲ هفته‌ای حفظ کردند (۴۶). به‌موازات این، پیشینه تحقیق در مورد انجماد، زمینه ضروری را برای راهبردهای حفظ باروری فراهم می‌کند (۴۷). انجماد شیشه‌ای به‌طور فزاینده‌ای بر انجماد کند برای اووسیت‌ها و بافت قشر تخمدان ترجیح داده می‌شود و بقای پس از ذوب برتری ارائه می‌دهد، هرچند انجماد کامل تخمدان همچنان در مرحله تجربی است و پیامدهای بالینی پس از پیوند بافت تخمدان همچنان مورد بحث است (۳۹). ملاحظات ریسک-منفعت شامل پتانسیل معرفی مجدد بدخیمی و نیاز به پروتکل‌های کنترل عفونت سخت‌گیرانه در ذخیره‌سازی سرمایی، به‌ویژه تحت چارچوب‌های ایمنی زیستی در حال تکامل است.

Zhan و همکاران، یک دستگاه میکروسیالاتی قابل حمل با استفاده از ترانزیستورهای میکروسیالاتی برای اووسیت‌های موش توسعه دادند که به‌طور خودکار به دام انداختن، بارگیری خطی CPA، آب‌گیری

یکپارچه‌سازی ژنومی در ART پیش از لانه‌گزینی تهاجمی، به‌سوی راهبردهای غیرتهاجمی در حال حرکت است که وضعیت کروموزومی را از روی DNA آزاد سلولی موجود در محیط کشت مصرف‌شده استنتاج می‌کنند؛ مفهومی که به‌طور طبیعی با سکوه‌های میکروفلوئیدیک پردازنده جنین و محیط کشت در میکروقطرات، برای نمونه‌برداری با کمترین اختلال، هم‌راستا است. توالی‌یابی نسل بعد و انتخاب مبتنی بر اومیکس به‌طور فزاینده‌ای تعیین می‌کنند که کدام جنین برای انتقال یا انجماد در اولویت قرار گیرد، و هم‌گرایی میکروفلوئیدیک با فناوری‌های ژنومی، پروفایل‌بندی ژنومی، رونوشت و اپی‌ژنومی روی تراشه را ممکن می‌سازد. با وجود اجماع گسترده بر این مسیر به‌سوی سکوه‌های یکپارچه‌ای که تصویربرداری، کنترل زیست‌مکانیکی، انجماد و تحلیل ژنتیکی روی تراشه را با هم تلفیق می‌کنند، دیدگاه‌ها درباره آمادگی بالینی متفاوت‌اند: برخی بر پیشرفت سریع به‌سوی IVF روی تراشه تأکید می‌کنند، در حالی که دیگران یادآور می‌شوند که مقیاس‌پذیری، استانداردسازی، اعتبارسنجی بالینی دقیق و نظارت اخلاقی و قانونی پیش‌نیاز باقی می‌مانند و همکاری چندرشته‌ای را شرطی اساسی برای پذیرش مبتنی بر شواهد می‌دانند.

بحث

فناوری‌های میکروسیالی در سال‌های اخیر به یکی از محورهای اصلی نوآوری در ART و زیست‌شناسی تخمدان تبدیل شده‌اند؛ زیرا کشت ایستای سنتی را به محیطی پویا، کم‌حجم و از نظر فیزیولوژیک واقع‌گرایانه بدل می‌کنند که برای جابجایی، جداسازی و کشت تخمک و جنین مناسب است. کنترل دقیق دینامیک سیال در مقیاس میکرو، پرفیوژن پیوسته و بازآفرینی ریزمحیط طبیعی سلول، مزیت فیزیولوژیک روشنی نسبت به روش‌های ایستا فراهم می‌کند و همزمان نیاز به حجم نمونه و دستکاری دستی را کاهش می‌دهد. در سطح آزمایشگاهی، شواهد امیدوارکننده است. جداسازی اسپرم میکروسیالی انتخاب اسپرم‌های متحرک با DNA سالم را بهبود می‌بخشد و در برخی مطالعات با بهبود ریخت‌شناسی جنین همراه بوده است. با این حال، اثبات بهبود پایدار در نرخ لقاح، بارداری بالینی و تولد زنده در جمعیت‌های انتخاب‌نشده هنوز محقق نشده است. همین شکاف میان نتایج آزمایشگاهی و پیامدهای بالینی، چالش محوری این حوزه است. پیشرفت چشمگیر در حفظ‌سرمايي و انجماد شیشه‌ای نیز مشهود است. مطالعه‌ی Guo و همکاران نشان داد، بارگذاری پیوسته میکروسیالی محافظ‌های انجمادی برای اووسیت‌های MII خوک، استرس اسمزی را نسبت به افزودن مرحله‌ای متعارف کاهش می‌دهد (۴۱). Miao و همکاران، با چپ میکروسیالی باز و بارگذاری گرایانی CPA به موفقیت ۱۰۰٪ در انجماد شیشه‌ای اووسیت موش

رسیدند، با بقای قابل‌مقایسه با روش دستی Cryotop و کاهش تغییرپذیری اپراتور (۴۶). Shen و همکاران، با سامانه‌های خودکار میکروسیالی و میکروکره‌های هیدروژل آلژینات، نرخ بقا، شکافت و بلاستوسیت را بهبود دادند و استرس اسمزی را کاهش دادند (۴۳). Tian و همکاران نیز با ترکیب میکروکپسوله‌سازی هیدروژلی و گرم‌کردن نانویی، تشکیل آنتروم، بازده اووسیت MII و نرخ تولد را قابل‌مقایسه با شاهد تازه گزارش کردند (۴۵). این یافته‌ها جهت‌گیری کلی حوزه را از انجماد آهسته و فرایندهای دستی به سمت انجماد شیشه‌ای خودکار و کم‌استرس نشان می‌دهند. با وجود این دستاوردها، باید به وابستگی گونه‌ای پاسخ‌ها توجه کرد. مطالعه‌ی Thuanut و همکاران، روی قشر تخمدان گربه نشان داد کشت پویا و ایستای پس از ذوب، کیفیت فولیکولی مشابهی ایجاد می‌کنند؛ یعنی جریان سیال به‌طور جهانی و در همه گونه‌ها نتایج را بهبود نمی‌دهد. این نکته اهمیت اعتبارسنجی مستقل در بافت انسانی را برجسته می‌کند (۴۱).

در حوزه‌ی زیست‌شناسی تخمدان، مدل‌های ovary-on-a-chip می‌توانند فولیکول‌زایی و بلوغ اووسیت را در محیط کنترل‌شده شبیه‌سازی کنند و امکان ارزیابی فیزیولوژی تخمدان و پاسخ به پروتکل‌های تحریک یا انجماد را فراهم سازند. پلتفرم‌های follicle-on-a-chip از رشد پایدار فولیکول انسانی تحت پرفیوژن پویا پشتیبانی می‌کنند، و رویکردهای کپسوله‌سازی core-shell و زیست‌تقلیدی توانسته‌اند فولیکول‌زایی را تا مرحله اووسیت MII در مدل‌های حیوانی پیش ببرند. سامانه‌های چنداندامی مانند EVATAR با مدل‌سازی تخمدان، لوله فالوپ، رحم، دهانه رحم و کبد در یک سیستم بازچرخشی، تبادل دوسویه درون‌ریز و پروفایل هورمونی چرخه ۲۸ روزه را بازآفرینی کرده‌اند و بستری برای زیست‌شناسی سیستمی و سم‌شناسی تولیدمثل فراهم می‌سازند. روند دیگر، حرکت از آزمایش ژنومی پیش از لانه‌گزینی تهاجمی به سمت راهبردهای غیرتهاجمی است که وضعیت کروموزومی را از DNA آزاد سلولی در محیط کشت مصرف‌شده استنتاج می‌کنند. پلتفرم‌های پردازش جنین میکروسیالی و کشت ریزقطره‌ای با امکان نمونه‌گیری با حداقل اختلال، با این روند هم‌راستا هستند و همگرایی میکروسیالی با توالی‌یابی نسل جدید و انتخاب مبتنی بر اومیکس، نمایه‌سازی ژنومی، رونوشتی و اپی‌ژنومی روی چپ را ممکن می‌سازد.

با وجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در توسعه فناوری‌های میکروسیالی و کاربردهای آن‌ها در حوزه کمک‌باروری، همچنان شکاف‌های پژوهشی مهمی در مسیر انتقال این نوآوری‌ها به کاربرد بالینی وجود دارد. بخش عمده‌ای از مطالعات موجود در سطح آزمایشگاهی یا مدل‌های حیوانی انجام شده و شواهد بالینی انسانی، به‌ویژه کارآزمایی‌های بالینی با طراحی مناسب و گزارش پیامدهای

follicle-on-a-chip، سامانه‌های چنداندازی مانند EVATAR و کپسوله‌سازی‌های core-shell توانسته‌اند رشد فولیکول، عملکرد هورمونی و بلوغ اووسیت را در مدل‌های آزمایشگاهی تقویت کنند. همچنین، میکروسایالات در انجماد و بارگذاری کنترل‌شده مواد محافظ سرما، کاهش تنش اسمزی و بهبود تکرارپذیری را نشان داده‌اند. با وجود این پیشرفت‌ها، ناهمگونی پروتکل‌ها، محدودیت داده‌های انسانی، چالش رگرایی، کشت بلندمدت، مقیاس‌پذیری و الزامات مقرراتی مانع ترجمان بالینی گسترده‌اند. بنابراین، استانداردسازی و کارآزمایی‌های چندمرکزی با نقاط پایانی بالینی ضروری است.

تشکر و قدردانی

در این پژوهش اهتمام نویسندگان بر این بوده تا از مقالات پر استناد این حوزه استفاده کرده تا مروری جامع بر مبحث مورد نظر را به تمام پژوهشگران ارائه دهند تا شاید بتواند چراغ راهی هر چند کم فروغ برای علاقه‌مندان این حوزه باشد. بدین سبب نهایت تقدیر و تشکر را از پژوهشگران این حوزه ابراز می‌داریم.

نهایی نظیر نرخ تولد زنده، همچنان محدود است. علاوه بر این، چالش‌هایی نظیر مقیاس‌پذیری تولید، استانداردسازی فرایندها، زیست‌سازگاری مواد، پایداری بلندمدت و الزامات مقرراتی، روند پیاده‌سازی این فناوری‌ها در محیط‌های بالینی را با محدودیت مواجه کرده است. از این‌رو، انجام مطالعات بالینی گسترده و استاندارد شده برای کاهش فاصله میان پیشرفت‌های آزمایشگاهی و کاربرد روتین بالینی ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

این مرور نشان می‌دهد که فناوری‌های میکروسایالی، از معماری‌های قطره‌محور و جریان پیوسته تا سامانه‌های چاپ سه‌بعدی و organ-on-a-chip، ظرفیت چشمگیری برای بازآفرینی ریزمحیط‌های فیزیولوژیک در زیست‌شناسی تخمدان و فناوری کمک‌باروری دارند. در ART، این سامانه‌ها امکان جداسازی دقیق‌تر اسپرم، دستکاری اووسیت، لقاح، کشت جنین و خودکارسازی فرایندها را فراهم کرده‌اند؛ با این حال، بهبود پایداری در نرخ بارداری و تولد زنده هنوز به‌طور قطعی اثبات نشده است. در پژوهش تخمدان، پلتفرم‌های

References

1. Karl MO, Kroeger W, Wimmers S, Milenkovic VM, Valtink M, Engelmann K, et al. Endogenous Gas6 and Ca²⁺-channel activation modulate phagocytosis by retinal pigment epithelium. *Cell Signal* [Internet]. 2008;20(6):1159–68. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-42249087140&doi=10.1016%2Fj.cellsig.2008.02.005&partnerID=40&md5=9e8d1eb48fd711347b8c4b52d202143a>
2. Li X, Wang M, Davis TP, Zhang L, Qiao R. Advancing Tissue Culture With Light-Driven 3d-Printed Microfluidic Devices. *Biosensors* 2024; 14(6): 301.
3. Jiaqi L, Cui L, Shi X, Wu S. Emerging Trends in Microfluidic Biomaterials: From Functional Design to Applications. *J Funct Biomater* 2025; 16(5): 166.
4. Song K, Li G, Zu X, Du Z, Liu L, Hu Z. The fabrication and application mechanism of microfluidic systems for high throughput biomedical screening: a review. *Micromachines* (Basel) 2020; 11(3): 297.
5. Li Y, Sun K, Shao Y, Wang C, Xue F, Chu C, et al. Next-generation approaches for biomedical materials evaluation: microfluidics and organ-on-a-chip technologies. *Adv Healthc Mater* 2024; 14(1): 2402611.
6. Chen L, Guo X, Sun X, Zhang S, Wu J, Yu H, et al. Porous Structural Microfluidic Device for Biomedical Diagnosis: A Review. *Micromachines* (Basel) 2023; 14(3): 547.
7. An L, Liu Y, Liu Y. Organ-on-a-Chip Applications in Microfluidic Platforms. *Micromachines* (Basel) 2025; 16(2): 201.
8. Chen H, Zhang X, Wang H, Xing S, Yin R, Fu W, et al. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Can Inhibit the Allocation of Microplastics From Crop Roots to Aboveground Edible Parts. *J Agric Food Chem* 2023; 71(47): 18323–32.
9. Hosseini SM, Asgari V, Ostadhosseini S, Hajian M, Ghanaei HR, Nasr-Esfahani MH. Developmental competence of ovine oocytes after vitrification: Differential effects of vitrification steps, embryo production methods, and parental origin of pronuclei. *Theriogenology* 2015; 83(3): 366–76.
10. Hosseini SM, Asgari V, Ostadhosseini S, Hajian M, Piryaee A, Najarasl M, et al. Potential applications of sheep oocytes as affected by vitrification and in vitro aging. *Theriogenology* 2012; 77(9): 1741–53.
11. Alias AB, Huang HY, Yao D. A Review on Microfluidics: An Aid to Assisted Reproductive Technology. *Molecules*. 2021;26(14):4354.
12. Weng L. IVF-on-a-Chip: Recent Advances in Microfluidics Technology for in Vitro Fertilization. *Slas Technol*. 2019;24(4):373–85.
13. Casciani V, Galliano D, Franasia JM, Mariani G, Meseguer M. Are we approaching automated assisted reproductive technology? embryo culture, metabolomics, and cryopreservation. *F&S Rev* 2021; 2(4): 251–64.
14. Huang HY, Kao W, Wang Y, Yao D. Using a Dielectrophoretic Microfluidic Biochip Enhanced

- Fertilization of Mouse Embryo in Vitro. *Micromachines* 2020; 11(8): 714.
15. Bashiri Z, Afzali A, Koruji M, Torkashvand H, Ghorbanlou M, Sheibak N, et al. Advanced Strategies for Single Embryo Selection in Assisted Human Reproduction: A Review of Clinical Practice and Research Methods. *Clin Exp Reprod Med* 2025; 52(1): 8–29.
 16. Bakhtari A, Rahmani HR, Bonakdar E, Jafarpour F, Asgari V, Hosseini SM, et al. The interfering effects of superovulation and vitrification upon some important epigenetic biomarkers in mouse blastocyst. *Cryobiology* 2014; 69(3): 419–27.
 17. Skory RM, Xu Y, Shea LD, Woodruff TK. Engineering the ovarian cycle using in vitro follicle culture. *Hum Reprod* 2015; 30(6): 1386–95.
 18. Aziz A u. R, Fu M, Deng J, Geng C, Luo Y, Lin B, et al. A microfluidic device for culturing an encapsulated ovarian follicle. *Micromachines* 2017; 8(11): 335.
 19. Thuwanut P, Pimpin A, Thatsanabunjong F, Srisuwatanasagul S, Sereepapong W, Sirayapiwat P. A modified hydrostatic microfluidic pumpless device for in vitro murine ovarian tissue culture as research model for fertility preservation. *Obstet Gynecol Sci* 2022; 65(4): 376–81.
 20. Xiao S, Coppeta JR, Rogers HB, Isenberg BC, Zhu J, Olalekan SA, et al. A microfluidic culture model of the human reproductive tract and 28-day menstrual cycle. *Nat Commun* 2017; 8(1): 14584.
 21. Healy MW, Dolitsky SN, Villancio-Wolter M, Raghavan M, Tillman AR, Morgan NY, et al. Creating an artificial 3-dimensional ovarian follicle culture system using a microfluidic system. *Micromachines* (Basel) 2021; 12(3): 261.
 22. Choi JH, Loarca L, De Hoyos-Vega JM, Dadgar N, Louterback K, Shah VH, et al. Microfluidic confinement enhances phenotype and function of hepatocyte spheroids. *Am J Physiol Physiol* 2020; 319(3): C552–60.
 23. Ferreira FTSM, Catalão KA, Mesquita RBR, Rangel AOSS. New microfluidic paper-based analytical device for iron determination in urine samples. *Anal Bioanal Chem* 2021; 413(30): 7463–72.
 24. Mastroiocco A, Cacopardo L, Temerario L, Martino NA, Tridente F, Rizzo A, et al. Investigating and Modelling an Engineered Millifluidic In Vitro Oocyte Maturation System Reproducing the Physiological Ovary Environment in the Sheep Model. *Cells* 2022; 11(22): 3611.
 25. Del Valle JS, Mancini V, Laverde Garay M, Asseler JD, Fan X, Metzemaekers J, et al. Dynamic in vitro culture of cryopreserved-thawed human ovarian cortical tissue using a microfluidics platform does not improve early folliculogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 936765.
 26. Laronda MM, Rutz AL, Xiao S, Whelan KA, Duncan FE, Roth EW, et al. A bioprosthetic ovary created using 3D printed microporous scaffolds restores ovarian function in sterilized mice. *Nat Commun* 2017; 8: 15261.
 27. Hosseini SM, Asgari V, Hajian M, Nasr-Esfahani MH. Cytoplasmic, rather than nuclear-DNA, insufficiencies as the major cause of poor competence of vitrified oocytes. *Reprod Biomed Online* 2015; 30(5): 549–52.
 28. Zhou Y. Advanced Strategies in Organoid/Organ-on-a-Chip for Female Reproductive Diseases. *Biofabrication* 2025; 18(1): 12004.
 29. Malo C, Oliván S, Ochoa I, Shikanov A. In Vitro Growth of Human Follicles: Current and Future Perspectives. *Int J Mol Sci* 2024; 25(3): 1510.
 30. Lopez E, Kamboj S, Chen C, Wang Z, Kellouche S, Leroy-Dudal J, et al. In Vitro Models of Ovarian Cancer: Bridging the Gap Between Pathophysiology and Mechanistic Models. *Biomolecules* 2023; 13(1): 103.
 31. Nair R, Kasturi M, Mathur V, Seetharam RN, Vasanthan KS. Strategies for Developing 3D Printed Ovarian Model for Restoring Fertility. *Clin Transl Sci* 2024; 17(7): e13863.
 32. Deng Y, Liu X, Jian X, Zhang Y, Hou Y, Hou S, et al. A Novel Clinical-Grade Cryopreservation Solution for Adipose Tissue Based on Metformin. *Stem Cell Res Ther* 2025; 16(1): 20.
 33. Mancini V, Pensabene V. Organs-on-Chip Models of the Female Reproductive System. *Bioengineering* (Basel) 2019; 6(4): 103.
 34. Dadashzadeh A, Moghassemi S, Shavandi A, Amorim CA. A review on biomaterials for ovarian tissue engineering. *Acta Biomater* 2021; 135: 48–63.
 35. Zhang H. Organoids and Organ-on-a-chip Models for Investigating the Pathophysiology of the Human Reproductive System. *Interdiscip Med* 2026; 4(2): e70094.
 36. Aziz AUR, Fu M, Deng J, Geng C, Luo Y, Lin B, et al. A microfluidic device for culturing an encapsulated ovarian follicle. *Micromachines*. 2017 Nov; 8(11): 335.
 37. Wu T, Yan J, Nie K, Chen Y, Wu Y, Wang S, et al. Microfluidic Chips in Female Reproduction: A Systematic Review of Status, Advances, and Challenges. *Theranostics* 2024; 14(11): 4352–74.
 38. Zhao G, Zhang Z, Zhang Y, Chen Z, Niu D, Cao Y, et al. A microfluidic perfusion approach for on-chip characterization of the transport properties of human oocytes. *Lab Chip* 2017; 17(7): 1297–305.
 39. Asgari V, Hosseini SM, Ostadhosseini S, Hajian M, Azhdari ZT, Mosaie M, et al. Specific activation requirements of in vitro-matured sheep oocytes following vitrification-warming. *Mol Reprod Dev* 2012; 79(7): 434–44.
 40. Thuwanut P, Comizzoli P, Pimpin A, Srituravanich W, Sereepapong W, Pruksananonda K, et al. Influence of hydrogel encapsulation during cryopreservation of ovarian tissues and impact of post-thawing in vitro culture systems in a research animal model. *Clin Exp Reprod Med* 2021; 48(2): 111–23.
 41. Guo Y, Yang Y, Yi X, Zhou X. Microfluidic method reduces osmotic stress injury to oocytes during cryoprotectant addition and removal processes in porcine oocytes. *Cryobiology* 2019; 90: 63–70.
 42. Miao S, Guo C, Jiang Z, Wei HX, Jiang X, Gu J, et al. Development of an Open Microfluidic Platform for Oocyte One-Stop Vitrification with Cryotop Method. *Biosensors* (Basel) 2022; 12(9): 766.
 43. Shen J, Ye N, Zhang Y, Liu C, Li W, Zhou X. Optimization of mouse oocyte vitrification through

- microencapsulation in sodium alginate hydrogel. *J Assist Reprod Genet* 2025; 42(10): 3493-504.
44. Stewart S, White A, Ou W, Liu W, Nagashima J, Songsasen N, et al. Controlled Ice Nucleation with a Sand-PDMS Film Device Enhances Cryopreservation of Mouse Preantral Ovarian Follicles. *J Med Devic* 2024; 18(4): 041007.
45. Tian C, Shen L, Gong C, Cao Y, Shi Q, Zhao G. Microencapsulation and nanowarming enables vitrification cryopreservation of mouse preantral follicles. *Nat Commun* 2022; 13: 7515.
46. Miao S, Xu J, Jiang Z, Luo J, Sun X, Jiang X, et al. Microfluidics-enabled robotic system for embryo vitrification with real-time observation: design, method, and evaluation. *IEEE/ASME Trans Mechatronics* 2023; 29(1): 179–89.
47. Asgari V, Hosseini SM, Forouzanfar M, Hajian M, Nasr-Esfahani MH. Vitrification of in vitro produced bovine embryos: Effect of embryonic block and developmental kinetics. *Cryobiology* 2012; 65(3): 278–83.
48. Zhan L, Hinnen H, Gopinathan KA, Toner M. Autonomous cryoprotectant loading of the oocyte using microfluidic transistors. *Device*. 2025;3(6):100715.

A Review of Microfluidic Technologies in Fertility Preservation with a Focus on Ovarian Tissue: Clinical Evidence and Research Perspectives

Hamid Bahramian¹, Mehdi Sattari-Najafabad², Hossein Salehi¹, Sayed Mehrdad Azimi¹,
Vajihe Asgari¹

Review Article

Abstract

Background: Microfluidic technologies have emerged as transformative tools in reproductive medicine. By enabling precise control of fluid dynamics at the microscale, they make it possible to recreate physiological conditions for gamete handling, embryo culture, and ovarian tissue modeling.

Methods: This review draws on highly cited literature published between 2015 and 2025 to map the current landscape of microfluidic platforms. It examines droplet-based, continuous-flow, 3D-printed, and porous-media systems, with particular attention to material selection, device architecture, and functional integration with a deep focus on ovarian tissue in assisted reproductive Techniques.

Findings: In assisted reproductive Techniques, microfluidic sperm sorting has been shown to select motile spermatozoa with intact DNA and to improve embryo morphology. However, consistent gains in fertilization rate, clinical pregnancy, and live birth remain unproven in unselected populations. Lab-on-a-chip systems that combine oocyte denudation, fertilization, and embryo culture have proven feasible in animal models but lack robust human data. In ovarian biology, follicle-on-a-chip platforms support the growth of human follicles under perfusion, and chips such as EVATAR have reproduced the hormonal profiles of a 28-day cycle. Core-shell encapsulation has advanced in vitro folliculogenesis in mice through to the metaphase II oocyte stage, pointing toward transplantation-independent fertility-preservation strategies.

Conclusion: Key barriers to clinical investigations include manufacturing scalability, regulatory standardization, limited human endpoints, and the challenges of vascularization and long-term culture. Future priorities are multicenter randomized trials with live birth as the primary endpoint, standardized reporting frameworks, and early engagement with regulatory bodies.

Keywords: Microfluidics, Assisted Reproductive Techniques, Ovary, Lab-on-a-chip, Devices

Citation: Bahramian H, Sattari-Najafabadi M, Salehi H, Azimi SM, Asgari V. A Review of Microfluidic Technologies in Fertility Preservation with a Focus on Ovarian Tissue: Clinical Evidence and Research Perspectives. J Isfahan Med Sch 2026; 44(866): 1009- 24.

1- Department of Anatomical and Molecular Biology Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Department of Chemical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Vajihe Asgari, Department of Anatomical and Molecular Biology Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: V.asgari@med.mui.ac.ir