

KRYOKONZERVÁCIA OOCYTOV – MOŽNÁ ALTERNATÍVA LIEČBY NEPLODNOSTI

P. HARBULÁK, I. STENOVÁ, G. KAŇOVÁ

OOCYTE CRYOPRESERVATION A POSSIBLE ALTERNATIVE TO INFERTILITY TREATMENT

GYN-FIV, a. s., Centrum pre gynekológiu, urológiu a asistovanú reprodukciu, Bratislava
Odborný garant: MUDr. P. Harbulák, PhD.

SÚHRN

V súčasnosti ženy vo vyspelých krajinách často odsúvajú plány otehotnieť až do vyššieho veku, či už z kariérnych, alebo zo spoločenských dôvodov. Tento trend môže mať na ženskú fertilitu nepriaznivý dosah a spôsobiť ťažkosti pri počatí. Vekový faktor zohráva v liečbe neplodnosti čoraz významnejšiu úlohu. Pokročilý materský vek má nepriaznivý vplyv na kvalitu oocytov, čím sa znižuje šanca na otehotnenie a súčasne sa zvyšuje incidencia potratov vo včasnej gravidite.

U žien s normálnou alebo so zníženou ovariálnou rezervou, ktoré dovŕšili tridsať rokov a nemajú partnera, prípadne pre pacientky pred plánovanou onkologickou liečbou, ktorá s vysokou pravdepodobnosťou ohrozí ich plodnosť, je vhodnou alternatívou kryokonzervácia oocytov po predchádzajúcej stimulácii ovárií.

Kľúčové slová: oocyt, kryokonzervácia, vitifikácia

SUMMARY

Currently, women in the developed countries often postpone planning to become pregnant until their advanced age, either due to career or social reasons. This trend may adversely affect female fertility causing difficulty in conception. The age factor plays an increasingly important role in infertility treatment. Advanced maternal age has a negative impact on the quality of oocytes, thereby reducing the chance of getting pregnant together with increasing the incidence of abortions in early pregnancy. In women with normal or low ovarian reserve who have reached the age of thirty years and have no partner, or for patients before a scheduled oncological therapy that will very likely threaten their fertility, oocyte cryopreservation after preceding ovarian stimulation is a good alternative.

Keywords: Oocyte, cryopreservation, vitrification

Slov. Gynek. Pôrod., 25, 2018, s. 32 – 35

ÚVOD

Mnohé krajiny západného sveta čelia závažným demografickým zmenám. Dôsledkom nich narastá dlhovekosť a klesá pôrodnosť⁽¹⁾. Európske krajiny vrátane Slovenska už s vysokou pravdepodobnosťou nemôžu počítať s dosiahnutím prirodzenej reprodukčability. Tento predpoklad by mohli zmeniť iba výrazné imigračné trendy obyvateľov

s vyššou plodnosťou⁽²⁾. Za posledných 20 rokov na Slovensku poklesla úhrnná plodnosť na jednu ženu vo fertílno-
m veku z 1,9 dieťaťa na 1,34. Priemerný vek prvoroďáčiek stúpol z 21 na 27 rokov⁽³⁾. Výsledky liečby metódami asistovanej reprodukcie sa vďaka zdokonaľovaniu materiálneho vybavenia a zavádzaniu nových techník neustále zlepšujú. Súčasne to vyvoláva často nereálne očakávania aj u žien vyšších vekových skupín, resp. u žien s výrazne zníženou

ovariálnou rezervou^(4,5). Dôsledkom starnutia vaječnikov dochádza k poklesu celkového počtu oocytov a zhoršeniu ich kvality. Tento proces je kontinuálny a nezvratný. U mladých žien sa aneuploidia oocytov vyskytuje v 20 %, u starších dosahuje 50 % a naďalej progresívne stúpa^(6,7,8).

Pokles plodnosti je spojený s trendom odd'ovania materstva do vyššieho veku. Šanca otehotnieť vo veku 37 rokov je už výrazne znížená a každý ďalší rok klesá^(9,10). Vo veku 40 rokov je šanca na otehotnenie z vlastných oocytov minimálna. Veľa žien riskuje „sociálnu“ (súvisiacu s vekom) neplodnosť a niektorým sa z vlastných oocytov nepodarí otehotnieť nikdy⁽¹¹⁾.

Kryokonzervácia oocytov predstavuje významný prínos pre zachovanie ženskej fertility. Poskytuje možnosť uchovávať oocyty u žien zo zdravotných dôvodov a odkrýva nové možnosti aj pre veľkú populáciu žien, ktoré z rôznych osobných dôvodov plánujú materstvo na neskoršie obdobie.

AKO SA ZÍSKAVAJÚ A ZMRAZUJÚ ĽUDSKÉ OOCYTY?

V súčasnosti existujú dve metódy kryokonzervácie oocytov: pomalé mrazenie a rýchle mrazenie (vitifikácia). Počiatočné pokusy o mrazenie oocytov využívali metódy pomalého mrazenia, ktoré sa považovali za zlatý štandard v kryokonzervácii embryí. Ide o mraziaci proces v dostatočne pomalom čase, čím sa zabezpečí adekvátna bunková dehydratácia a minimalizuje sa tvorba vnútrobunkových kryštálov. Prežívanie takto zamrazených oocytov bolo však po rozmrazení veľmi nízke. Ani množstvo dosiahnutých klinických gravidít nebolo uspokojivé. Zvýšením koncentrácie sacharózy v mraziacom roztoku sa úspešnosť pomalého mrazenia zlepšila⁽¹²⁾. Postupne sa začali zavádzať vitrifikáčnejšie techniky, čím sa úspešnosť kryokonzervácie oocytov významne zvýšila. Dosiahlo sa lepšie prežívanie rozmrazených oocytov, viac klinických tehotností aj vyššia pôrodnosť⁽¹³⁾. Vitifikácia predstavuje mrazenie buniek a extracelulárneho prostredia pri veľmi nízkej teplote (−196 °C) bez tvorby intracelulárnych kryštálov. Proces kryokonzervácie oocytov zahŕňa vitifikáciu a rozmrazovanie. Tvorba intracelulárneho ľadu, nekontrolovaná dehydratácia, tvorba plynových bublín alebo zvýšenie viskozity môžu zapríčiniť nezvratné poškodenie oocytov⁽¹⁴⁾. Naopak, rekryštalizácia, alebo osmotický šok môžu nepriaznivo ovplyvniť prežívanie oocytov počas procesu rozmrazovania. Je teda nevyhnutné znížiť obsah intracelulárnej tekutiny čiastočnou dehydratáciou pomocou krátkej expozície vysokými koncentraciami kryoprotektantov. Existuje korelácia medzi teplotou mrazenia a množstvom kryoprotektantov (pri vyšších teplotách mrazenia sa vyžadujú nižšie koncentrácie kryoprotektantov). Kľúčovú úlohu v procese vitifikácie zohráva stanovenie optimálneho času expozície oocytov kryoprotektantmi. Čas expozície musí byť dostatočne dlhý na to, aby sa zabezpečila vyhovujúca dehydratácia oocytov. Nesmie však byť príliš dlhý, aby vplyvom zmien v intracelulárnom pH alebo účinkom časovo závislej cytotoxicity kryoprotektantov nedošlo k poškodeniu buniek⁽¹⁵⁾.

AKÝ JE POTENCIÁLNY PRÍNOS MRAZENIA OOCYTOV?

Koncom deväťdesiatych rokov minulého storočia sa začali prvé pokusy mrazenia oocytov na zachovanie plodnosti u mladých žien s nádorovým ochorením⁽¹⁶⁾. V roku 2012 Americká spoločnosť pre reprodukčnú medicínu (ASRM) a Spoločnosť pre asistovanú reprodukčnú technológiu (SART) oznámili, že kryokonzerváciu oocytov nemožno naďalej považovať za experimentálnu metódu a v roku 2013 vydali klinický „guideline“⁽¹⁷⁾. Zmrazenie vajčiek zo sociálnych dôvodov (social-eggfreezing) alebo preventívna kryoprezervácia ženských pohlavných buniek s cieľom ich neskoršieho využitia sa v súčasnosti zvyčajne ponúka ženám mladším ako 38 rokov. Poskytuje im perspektívu mať zdravé deti, aj keď plánujú odklad tehotnosti na neskoršie obdobie⁽¹⁸⁾. Po rozmrazení a následnom oplodnení takýchto oocytov in vitro sa znižuje riziko výskytu chromozómových anomálií a aneuploidných embryí^(19,20). Táto metóda je akceptovateľnou alternatívou aj pre ženy, ktoré majú morálne alebo náboženské námietky proti kryokonzervácii embryí. Rozvoj a najväčšie využitie tejto metódy nastali spočiatku v krajinách, v ktorých legislatíva neumožňuje kryokonzerváciu embryí. U žien bez partnerov, ktoré majú súčasne zníženú ovariálnu rezervu (znížený AMH, AFC) sa rozdiel medzi spoločenskou a medicínskou indikáciou stiera. Pre túto skupinu žien je ovariálna stimulácia s následnou kryokonzerváciou oocytov tým najlepším riešením. Inak by v budúcnosti ich šanca na otehotnenie bola nižšia a náklady na stimulačnú liečbu vyššie.

AKÝ JE IDEÁLNY VEK NA MRAZENIE OOCYTOV?

Ideálny vek žien, ktoré zvažujú mrazenie oocytov zo sociálnych dôvodov, je 31 – 35 rokov. Mladšie ženy majú ešte čas nájsť si partnera alebo si dať zmraziť oocyty po dosiahnutí veku 30 rokov, a pritom neriskovať výraznejšie zníženie ich reprodukčného potenciálu. Mnohokrát však požiadavka na kryokonzerváciu oocytov pochádza od žien vo veku 36 až 40 rokov⁽²¹⁾. Napriek nižšiemu fertilizačnému potenciálu a nižšej percentuálnej úspešnosti môžu aj tieto ženy, oproti ženám viac než 40-ročným, profitovať z tejto metódy. Nižší fertilizačný potenciál sa môže kompenzovať opakovanými cyklami kryoprezervácie. Očakávaný reprodukčný prínos preventívneho zmrazenia oocytov závisí od časového intervalu medzi zmrazením a rozmrazením oocytov, aj od skutočného veku ženy v čase kryokonzervácie. Zo zdravotných a spoločenských dôvodov by obdobie tehotnosti nemalo prekročiť stanovený maximálny vek ženy^(11,17).

AKÝ JE IDEÁLNY POČET ZMRAZENÝCH OOCYTOV?

V súčasnosti neexistuje žiadny jasný a spoľahlivý algoritmus, ktorý by odporúčal presne stanovený počet kryoprezervovaných oocytov. Oktay a kol. v metaanalýze dospeli k záveru, že u žien s priemerným vekom 32,3 roka je predpoklad klinickej tehotnosti na rozmrazený oocyt po vitifikácii 4,5 %. Z toho vyplýva, že na jednu klinickú tehotnosť

je potrebných priemerne 22 oocytov⁽²²⁾. V odporúčaní pre klinickú prax Americkej spoločnosti pre reprodukčnú medicínu ASRM-SART sa uvádza, že očakávaná miera prežitia oocytov po vitifikácii a rozmrazení je 90 – 97 %, miera oplodnenia je 71 – 79 % a miera implantácie je 17 – 41 %. Úspešnosť klinickej tehotnosti na rozmrazený oocyt je 4,5 % až 12 %⁽¹⁷⁾. Treba však podotknúť, že tieto výsledky sa dosiahli v skupine žien mladších ako 30 rokov. Miera klinických tehotností so stúpajúcim vekom ženy v čase zmrazenia vajíčok klesá⁽¹⁷⁾. ASRM udáva, že u žien mladších ako 38 rokov je živonarodenosť detí 2 – 12 %⁽²³⁾. Porovnanie klinických výsledkov medzi čerstvými a vitrifikovanými/rozmrazenými oocytmi u žien do 39 rokov ukázalo, že vitifikácia oocytov ponúka účinnú alternatívu zachovania plodnosti aj pre ženy v pokročilejšom reprodukčnom veku⁽²⁴⁾. Bez ohľadu na počet kryoprezervovaných oocytov musia byť ženy informované a vedomé si toho, že kryokonzervácia nemôže plne zaručiť úspešné otehotnenie.

AKÉ SÚ ZDRAVOTNÉ RIZIKÁ PRI KRYOKONZERVÁCIÍ OOCYTOV?

Zdravotné riziká vyplývajú zo stimulácie vaječnikov gonadotropínmi. Najčastejšou komplikáciou je ovariálny hyperstimulačný syndróm (OHSS). Mierny až stredne závažný ovariálny hyperstimulačný syndróm zahŕňa únavu, nauzeu, bolesti hlavy, bolesť brucha, citlivosť prsníkov a podráždenosť. V monitorovanom cykle sa zvyčajne darí nepriaznivé účinky liečby včas dostať pod kontrolu. Incidencia závažnej formy OHSS je 0,1 – 2 %.

AKO DLHO MÔŽU BYŤ OOCYTY KRYOKONZERVOVANÉ?

Dlhodobejšie uskladnenie oocytov nemá na ich kvalitu negatívny vplyv. Dosiaľ sú však dostupné údaje limitované. Je zrejmé, že vyšší vek rodičiek súvisí s vyšším rizikom komplikácií počas tehotnosti. Zatiaľ je málo informácií o vplyve vyššieho veku rodičov na psychologický vývoj detí⁽²⁵⁾. Väčšina pracovníkov uvádza hornú vekovú hranicu, po ktorú sa môžu kryoprezervované oocyty uskladňovať. Za rozumnú sa pokladá rovnaká veková hranica, aká je stanovená u príjemkýň darcovských oocytov. V súčasnosti je v Holandsku 45, v Belgicku 47 a v Českej republike 49 rokov. Z dotazníkových údajov vyplýva, že málo klientok s kryoprezervovanými oocytmi plánuje tehotnosť vo veku nad 45 rokov.

SPOLOČENSKÉ ASPEKTY KRYOKONZERVÁCIE OOCYTOV

Mrazenie oocytov zo sociálnych dôvodov využíva medicínsku technológiu na riešenie nie medicínskeho problému, akým je prirodzené starnutie. Preto by sa diskusia nemala obmedziť len na potenciálny prínos, riziká a finančné náklady, ale mala by sa venovať pozornosť aj spoločenskému dosahu. Na jednej strane sa ponúka akýsi „záložný plán na poistenie plodnosti“, ktorý mladým ženám poskytne čas

na nájdenie vhodného dlhodobého partnera, dokončenie vzdelania, dosiahnutie finančnej stability alebo na podporu kariérnych cieľov bez obáv o svoju plodnosť v budúcnosti. Ženy, ktoré chcú mať svojho genetického potomka a predísť ťažkostiam pri liečbe neplodnosti vo vyššom veku, sa však do budúcnosti dostávajú pod osobný tlak⁽²⁶⁾. Keďže vynosenie a výchova dieťaťa sú u mladších žien bežnejšie a jednoduchšie, rozhodnutie odsúvať otehotnenie nie je vhodnou alternatívou pre všetky.

ROVNOSŤ MEDZI ŽENAMI A MUŽMI V REPRODUKCIÍ

Dĺžka plodnosti žien zostáva dlhé generácie rovnaká. Vzhľadom na stále sa predlžujúcu priemernú dĺžku života v ľudskej populácii dochádza u žien v porovnaní s mužmi pomerne skoro k poklesu a k strate plodnosti. Muži už dlhý čas využívajú kryokonzerváciu spermií z medicínskych indikácií (napr. práca v toxickom prostredí, plánovaná chemoterapia), ale aj z iných dôvodov (napr. pred vazektómiou). Mrazenie oocytov z medicínskych alebo zo spoločenských dôvodov zrovnoprávňuje ženy s mužmi a poskytuje im rovnakú šancu na založenie vlastnej rodiny^(27,28).

FINANČNÉ NÁKLADY

Vzhľadom na finančnú náročnosť (celkové náklady na cyklus IVF s vitifikáciou oocytov je 1 500 až 2 000 €) nie je mrazenie oocytov dostupné pre všetky ženy. Cykly mimotelového oplodnenia (IVF) na Slovensku čiastočne hradí zdravotná poisťovňa iba heterosexuálnym párom. Ženy bez partnera nemajú nárok na finančný príspevok na hormonálnu stimulačnú liečbu, odber, ani mrazenie oocytov. V prípade mrazenia oocytov zo sociálnej indikácie nemožno očakávať v blízkej budúcnosti žiadnu zmenu. Refundácia nákladov na zmrazenie oocytov si vyžaduje odbornú aj spoločenskú diskusiu. Mala by sa týkať hlavne žien s medicínskou indikáciou, resp. žien do 39 rokov, ktoré využijú vitrifikované oocyty na liečbu neplodnosti so svojím partnerom, keďže ženy rovnakého veku majú v čerstvom cykle IVF nárok na čiastočnú úhradu nákladov zo zdravotného poistenia.

ZÁVER

Kryokonzervácia embryí sa považuje za štandardnú metódu zachovania fertilizačného potenciálu v klinickej praxi. Hlavnou výhodou vitifikácie oocytov je, že v čase odberu oocytov nie sú potrebné žiadne spermie⁽²⁹⁾. Primárne sa táto metóda akceptovala z medicínskej indikácie (napríklad pred gonadotoxickou liečbou) najmä u mladých a slabodných žien. V súčasnosti prebieha spoločenská diskusia o kryoprezervácii oocytov na zachovanie plodnosti zo sociálnej indikácie. V súčasnosti sa už techniky mrazenia vajíčok nepovažujú za experimentálne a stále stúpa počet dôkazov o ich účinnosti a bezpečnosti. Taktiež pribúda počet hlasov, ktoré podporujú potrebu posunúť kryokonzerváciu oocytov z roviny „luxusnej medicíny“ do roviny preventívnej medicíny, pri zachovaní prísnych etických pravidiel.

LITERATÚRA

1. EUROPEAN PAPERS ON THE NEW WELFARE: Implications of Demographic Change in Enlarged EU on Patterns of Saving and Consumption and in Related consumers's Behaviour. 2007; Paper No. 8
2. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES: Demographic future of Europe-from challenge to opportunity 2006. 2008.
3. ŠTATISTICKÝ ÚRAD SR: Vývoj obyvateľstva v Slovenskej republike a krajoch v roku 2013. 2014, 8-14.
4. CHEN, R., MORGAN, S.P.: Recent trends in the timing of first births in the United States. *Demography*, 1991, 28,109-113.
5. GUSTAFSSON, S.: Optimal age at motherhood. Theoretical and empirical considerations on postponement of maternity in Europe. *J. Popul. Econom.*, 2001, 14, 225-247.
6. NAVOT, D., BERGH, P. A., WILLIAMS, M.A., et al.: Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet*, 337, 1991, 1375-1377.
7. HASSOLD, T., HALL, H., HUNT, P.: The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum. Mol. Genet.*, 2007, 16, 203-208. (doi:10.1093/hmg/ddm243).
8. ATA, B., et al.: Array CGH analysis shows that aneuploidy is not related to the number of embryos generated. *Reprod. Bio. Med.*, 2012, 15, 614-620.
9. DE ZIEGLER, D., RAGGI, A., VULLIEMOZ, N., et al.: Ovarian Reserve a term bound for confusion. *IFFS*, 2013, 6, 3-4.
10. HARBULÁK, P.: Vek a ovariálna rezerva. *Slov. Gynek. Pôrod.*, 23, 2016, 36-39.
11. STOOP, D.: Social oocyte freezing. *Facts. Views. Vis. Obstet. Gynek.*, 2010, 2(1), 31-34.
12. Borini, A., Sciajno, R., Bianchi, V, et al.: Clinical outcome of oocyte cryopreservation after slow cooling with a protocol utilizing a high sucrose concentration. *Hum Reprod.*, 2006, 21, 512-517.
13. KATAYAMA, K.P., STEHLIK, J., KUWAYAMA, M., et al.: High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy. *Fertil. Steril.*, 2003, 80, 223-224.
14. COTICCHIO, G., BONU, M., BORINI, A., et al: Oocyte cryopreservation: a biological perspective. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2004, 115, 2-7.
15. GOOK, D.A., EDGAR, D.H.: Human oocyte cryopreservation. *Hum. Reprod. Update*, 2007, 13, 591-605.
16. PORCU, E., CIOTTI, P., VENTUROLI, S.: Handbook of human oocyte cryopreservation. Cambridge, Cambridge University Press, 2013, p. 60.
17. Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology: Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil. Steril.*, 2013, 99, 37-43.
18. BOLDT, J.: Current results with slow freezing and vitrification of the human oocyte. *Reprod. Biomed. Online*, 2011, 23, 314-322.
19. LIU, K., CASE, A.: Advanced reproductive age and fertility. *J. Obstet. Gynaecol. Can.*, 2011, 33, 1165-1175.
20. CHENG, R., CHIAN, Y., WANG, Y., et al.: Oocyte vitrification: advances, progress and future goals. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2014, 31(4), 411-420.
21. GOLD, E.: Motivational assessment of women undergoing elective egg freezing for fertility preservation. *Fertil. Steril.*, 2006, 86(Suppl 1), 210.
22. OKTAY, K., CIL, A.P., BANG, H.: Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil. Steril.*, 2006, 86, 70-80.
23. FACT SHEET: Can I freeze my eggs to use later if I'm not sick? Birmingham (AL): American Society for Reproductive Medicine; 2014.
24. NAGY, Z.P., CHANG, C., BERNAL, D., et al.: Comparison of laboratory and clinical outcomes between fresh and vitrified/warmed sibling oocytes obtained from 30-39 year old IVF patients. *Fertil. Steril.*, 2009, 229, 67.
25. MCMAHON, C.A., GIBSON, F.L., ALLEN, J.L. et al.: Psychological adjustment during pregnancy for older couples conceiving through assisted reproductive technology. *Hum. Reprod.*, 2007, 22, 1168-1174.
26. CARON, S.L., FERLAND, P.: Exploring the long-term impact of female infertility: a qualitative analysis of interviews with postmenopausal women who remained childless. *Fam. J.*, 2013, 21, 180-1888.
27. HOMBURG, R., VAN DER VEEN, F., SILBER, S.J.: Oocyte vitrification – Women's emancipation set in stone. *Fertil. Steril.*, 2009, 91, 1319-1320.
28. DONDORP, W.J., DE WERT, G.M.: Fertility preservation for healthy women: ethical aspects. *Hum. Reprod.*, 2009, 89,146-148.
29. LEE, S.J., SCHOVER, L.R., PARTRIDGE, A.H., et al.: American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients? *J. Clin. Oncol.*, 2006, 24, 2917-2931.

Adresa:

MUDr. Peter Harbulák, PhD.
GYN-FIV, a.s.

Centrum pre gynekológiu, urológiu a asistovanú reprodukciu
Záhradnícka 42, 821 08 Bratislava
e-mail: peter.harbulak@gyn-fiv.sk