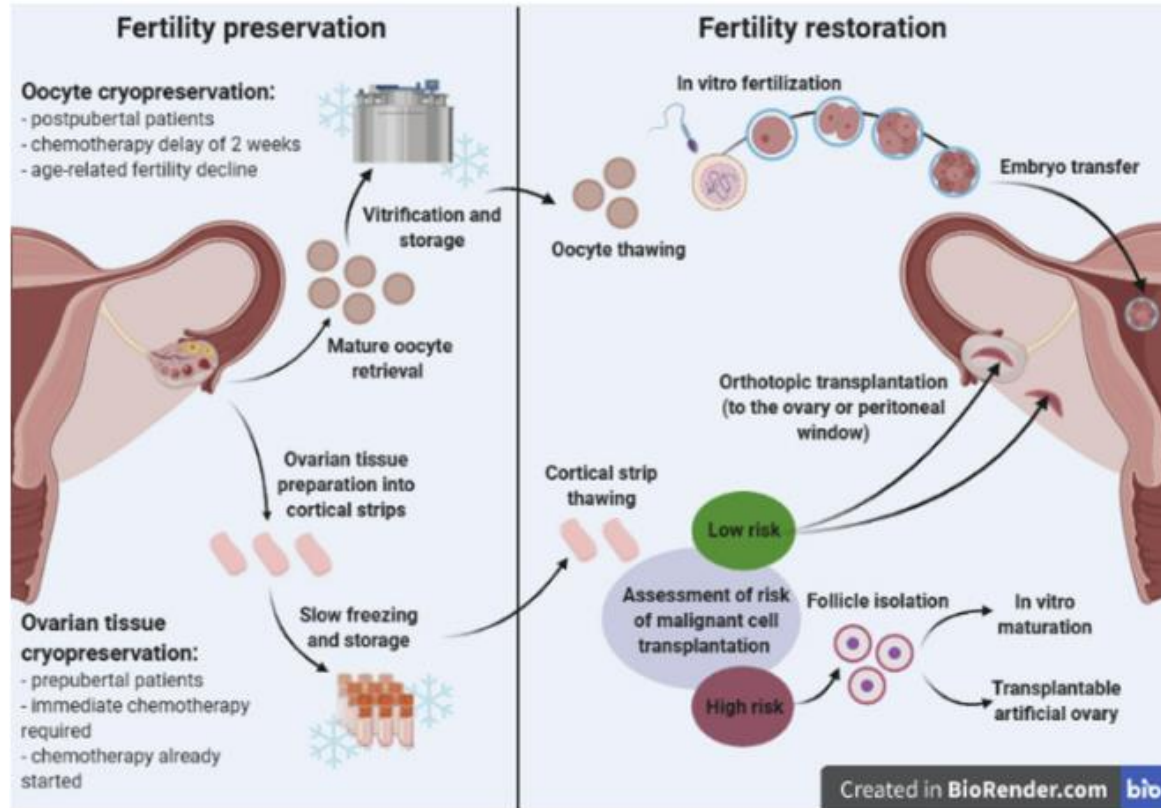


Kryokonzervace ovariální tkáně

doc. Ing. Michal Jeřeta, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika, LF MU a FN Brno

Kryoprezervace onkol. pacientek



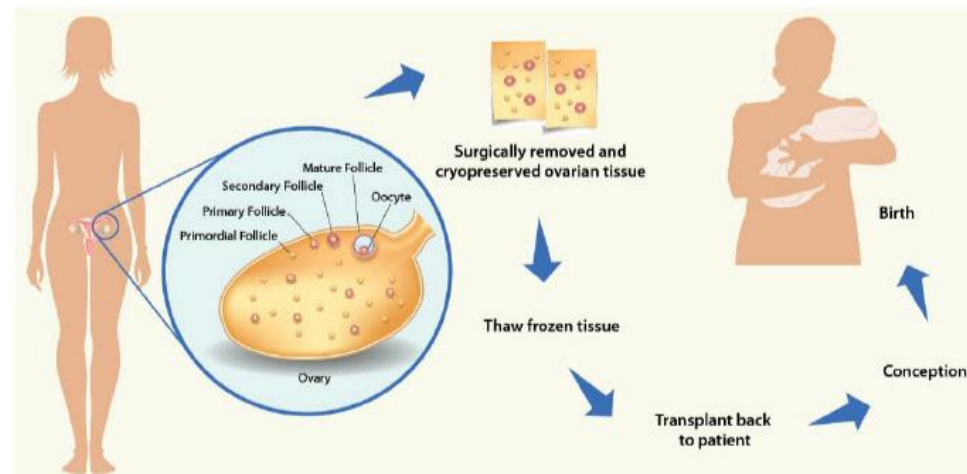
- pacientky v postpubertálním věku, pacientky, u kterých lze chemoterapii odložit přibližně o 2 týdny, nebo pacientky v programu zachování fertility pro pokles plodnosti související s věkem, podstupují odběr zralých oocytů po řízené stimulaci vaječnicků
- kryokonzervace ovariální tkáně je podstupována u pacientek v prepubertálním věku, u pacientek vyžadujících okamžitou chemoterapii nebo u těch, které již chemoterapii zahájily
- tkáň vaječnicků je odebrána ve formě několika bioptických vzorků, rozřezána na kortikální proužky a kryokonzervována

Historie kryokonzervace ovariální tkáně

- první pokusy o kryokonzervaci ovariální tkáně se datují do roku 1950
- neúspěšné z důvodu neefektivní kryokonzervace
- v devadesátých letech 20. století počíná rozvoj metod kryokonzervace ovariální tkáně: na rozdíl od oocytů či embryí je ovariální tkáň mnohem komplexnější – více buněčných typů (stromální, folikulární, oocyty)
- první porod zdravého dítěte (Tamara, Belgie) po transplantaci ovariální tkáně v roce 2004 u 32leté ženy (chemoterapie, Hodgkinův lymfom, v 25 letech kryo ovárií)
- v roce 2019 bylo více než 130 narozených dětí po kryokonzervaci ovariální tkáně



Prof. Jacques Donnez



Historie kryokonzervace ovariální tkáně

1950' Development of ovarian tissue cryopreservation technique in rodent using 15% glycerol at -79°C (Parkes and Smith 1954)

1960' Normal offspring obtained after orthotopic transplantation of frozen ovarian tissue in mice (Parrott et al, 1960)
Low rate of implantation/High rate of pregnancy resorption

1990' Restoration of endocrine function and fertility after slow-freezing of ovarian tissue using DMSO and transplantation in large mammals (Gosden et al, 1995)

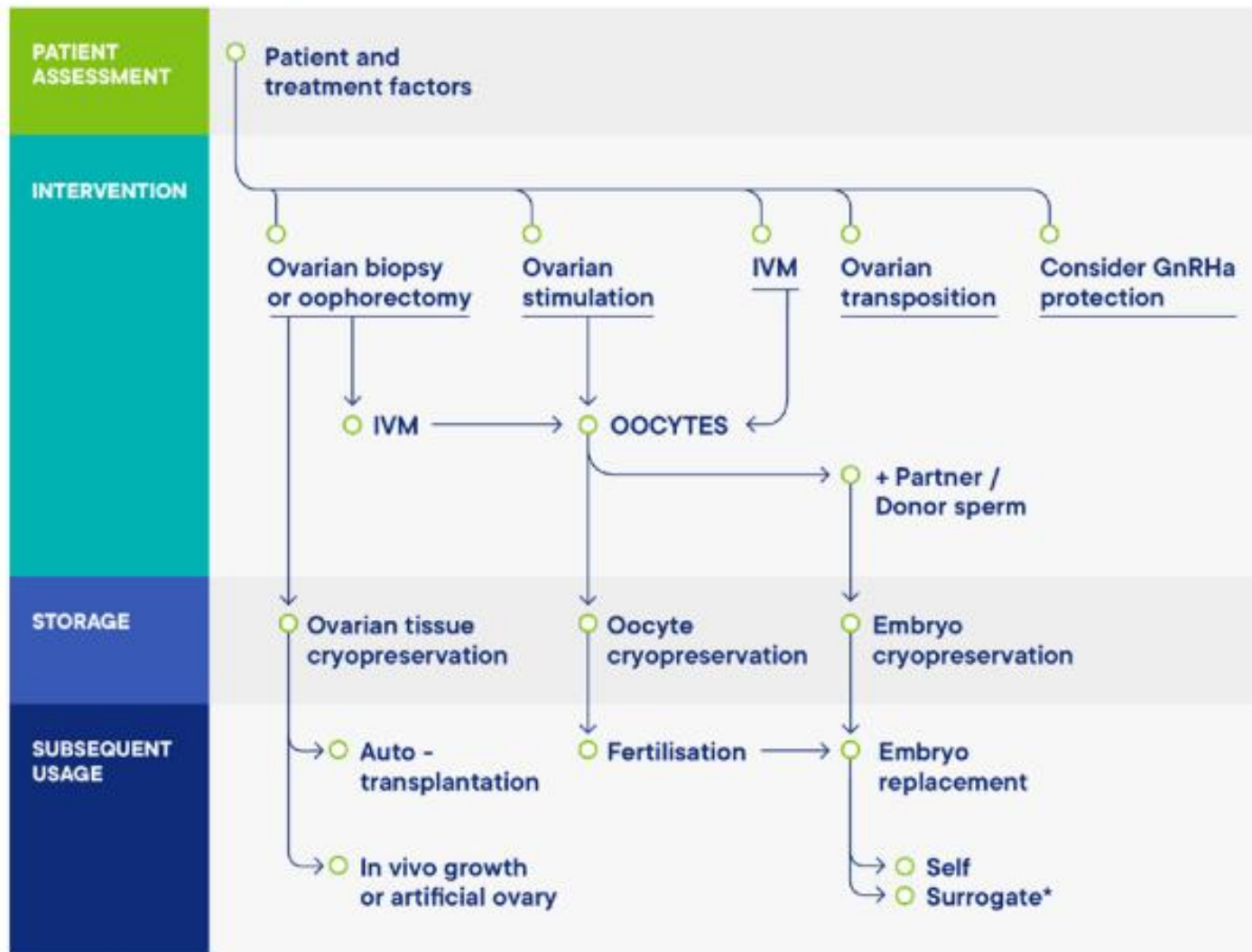
2004 First human live birth after transplantation of cryopreserved tissue collected in adult (Donnez et al., 2004)

2015 First human live birth after transplantation of cryopreserved tissue collected in pre-menarchal children (Demeestere et al., 2015)

Fyziologické aspekty ztráty ovárií

- syndromy menopauzy - **ztráta plodnosti žen**
- větší riziko **osteoporózy** – deficit estrogenů, kostní ztráta o 2-5%/rok
- ostatní **příznaky menopauzy** včetně návalů horka, ztráty libida a hypertenze
- obvykle farmakologická hormonální substituční terapie (HRT)
- může zvýšit výskyt cévní mozkové příhody, **žilní tromboembolie**, srdeční choroby a rakoviny v důsledku dlouhodobého podávání HRT
- kryokonzervace ovariální tkáně představuje efektivní alternativu řešení tohoto problému

Figure 4 Schematic overview of the options for female fertility preservation. Adapted from (Anderson, *et al.*, 2015)

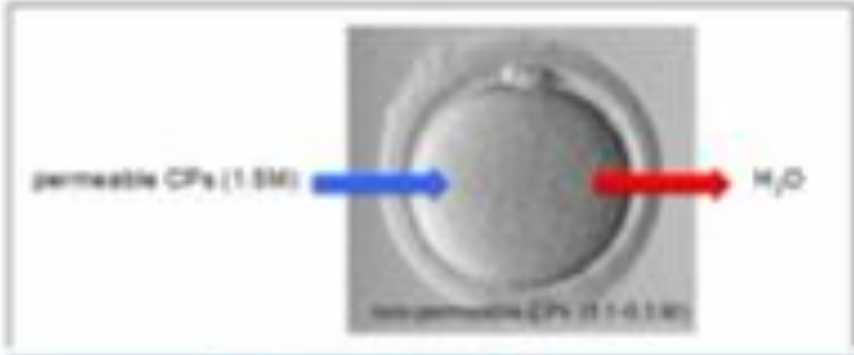


* if permitted

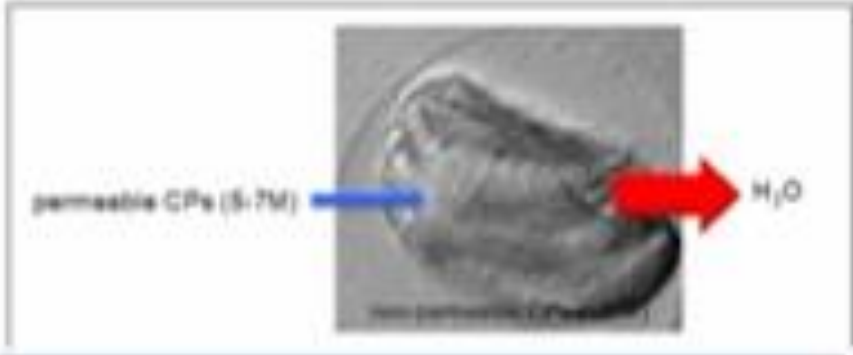
Adapted from Anderson RA, *et al.* *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015;3: 556-567.

Ovarium - komplexní tkáň

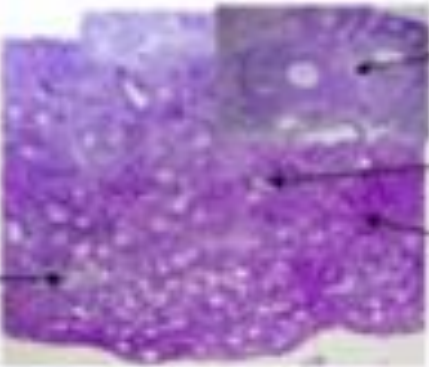
SLOW FREEZING



VITRIFICATION



Ovarian Tissue?



SECONDARY FOLLICLES

GRANULOSA CELLS

STROMA

OOCYTES

Timing for penetration of the cryoprotectants versus toxicity?

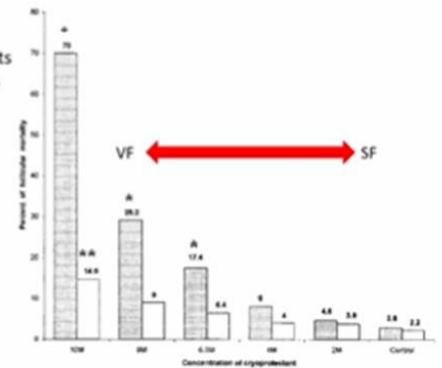
Slow freezing vs Virtrifikace

- standardní metodou je slow freezing v médiu s HSA + sacharóza + propandiol, DMSO či ethylenglykol
- takto přežije cca 70% primordiálních folikulů

TOXICITY OF THE CRYOPROTECTANTS

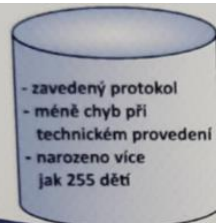
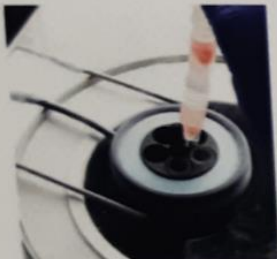
Follicular mortality after exposure to cryoprotectants at different concentrations

DMSO (shaded bars)
PROH (white bars)



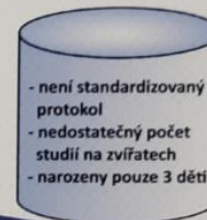
14-04-21

Demirci et al., 2001



- zavedený protokol
- méně chyb při technickém provedení
- narozeno více jak 255 dětí

pomalé zamražení



- není standardizovaný protokol
- nedostatečný počet studií na zvířatech
- narozeny pouze 3 děti

virtrifikace



Slow freezing vs Vitrification

PROTOCOL STANDARDIZATION: SLOW-FREEZING



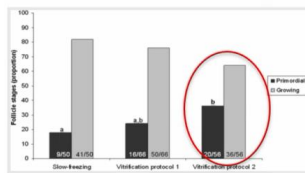
Basal medium	Supplements	Cryoprotectants	Timing
MEM	HSA Serum FCS	<ul style="list-style-type: none"> DMSO (1.5M-10%) PROH (1.5M) Sucrose (0.1M) 	<ul style="list-style-type: none"> 30 min at 4°C or on ice (DMSO) and at RT (PROH)
Leibovitz L-15	10% FCS		<ul style="list-style-type: none"> 15 min on ice (DMSO)
PBS	Albumine		<ul style="list-style-type: none"> Increasing steps of 0.25 M up to 1.25 M of DMSO/PROH (7 min each) and then 1.5 M DMSO/PROH (30 min) at 37° C
RPMI 1640 medium + GlutaMAX	FCS Serum		<ul style="list-style-type: none"> 10 min at 4°C in 0.7 M DMSO and 10 min at 4°C in 1.5 M DMSO

PROTOCOL STANDARDISATION: VITRIFICATION TECHNIQUES

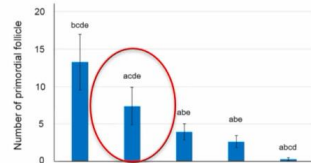


- Two solutions:
 - Equilibration (one or two steps) for 5-30 min
 - Vitrification (high concentration of cryoprotectants for 1-30min)
- More than 15 different protocols using EG + PROH and/or DMSO + EG, PROH+DMSO+EG or EG
- Sucrose and/or polymers (PVP, PEG, PVA) or not
- Rapid thawing

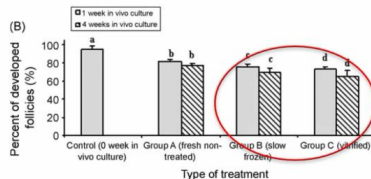
Which one should be used in clinic?



1.5M DMSO +HSA
Step up to 20% DMSO + 20% EG +HSA
Step up to 10% DMSO + 25% EG +HSA+PVP+sucrose



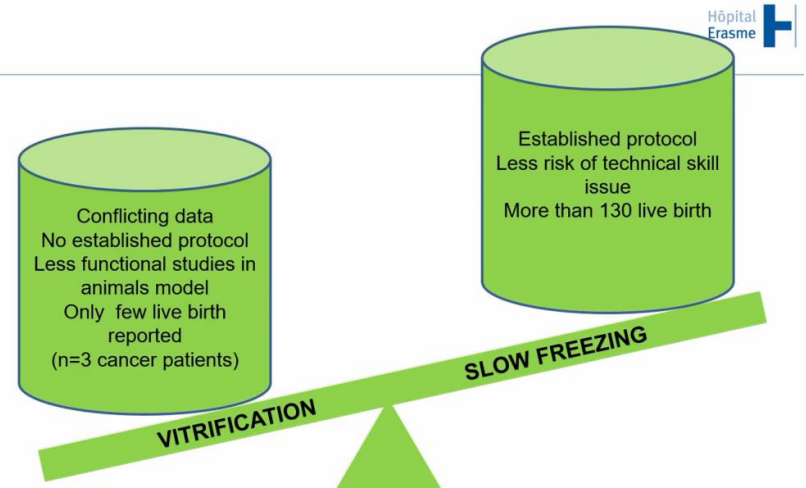
Control
SF
VT
SF-T
VT-T
Step up to 12.5% DMSO + SSS
Step up to 20% DMSO + 20% EG + SSS+sucrose



Type of treatment

Ná:

0011c)



Should vitrification versus slow freezing be used for ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation?

47	The slow freezing protocol for OTC is well-established and considered as standard.	STRONG	⊕○○○
48	Vitrification of ovarian tissue should only be offered within a research program.	RESEARCH ONLY	

Srovnání pomalé mražení vs vitrifikace

- pomalé zamrazování vyniká díky schopnosti lépe zachovat **primordiální folikuly, vaskularizaci**, buněčnou proliferaci, DNA a exprese AMH a také počtu živě narozených dětí
- vitrifikace nabízí **rychlejší postupy**, ale zároveň může vykazovat horší výsledky v určitých aspektech zachování ovariální tkáně
- kryokonzervace pomalým zmrazováním vykazovala lepší účinnost než vitrifikační metody, které spouštějí expresi genů spojených s apoptotickými drahami v oocytech lidských folikulů

Slow Freezing vs Vitrifikace

- přibližně 30 % folikulů ve skupině s pomalým mrazením vykazovalo známky degenerace, pravděpodobně v důsledku osmotického stresu
- recentní studie ukázaly, že poměr zdravých folikulů a primární hustota folikulů po vitrifikaci je vyšší než u techniky pomalého zmrazování
- kvůli vysokému přežití a nižší úrovni folikulární degenerace bývá vitrifikace považována jako nejúčinnější postup pro prezervaci a zmrazení ovariální tkáně

STEP 1 Preparation

- Bring Cryo1, Cryo2 and Cryo3 to room temperature (25 - 27°C).
- Label the dishes "Cryo1" , "Cryo2" and "Cryo3". Put full content of the media in the respective dishes.

STEP 2 Preparing Ovary into Slices

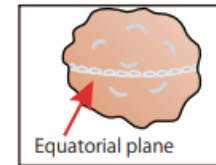
1. Wash an extracted ovary with saline and remove extra blood.
2. Puncture follicles with injection needle and aspirate the fluid with syringe.

Note: For the collected immature oocytes, culture for IVM and then vitrify the matured oocytes.
For the collected mature oocytes, vitrify or culture them in vitro.

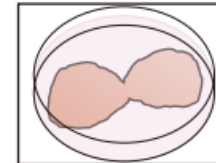
Method 1

For the following procedures, be careful not to dry the ovary and use Ova Rinse (Ref. 82215 Code. OVR-100).

1. Cut the ovary with scissors along the equatorial plane. Once you make a small cut at the equatorial plane, insert the tip of the scissors vertically into the medulla and spread them. Repeat this all along the equatorial plane.



2. Open the ovary in two pieces along the equatorial plane.
For the following procedure, start with one half first and leave the other in Ova Rinse.

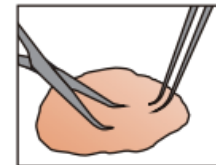


3. Medulla should be removed and only cortex is to be used for vitrification. Gently hold the ovary with tweezers and cut off the medulla with scissors until only 1mm thin cortex is left. This process should be done in Ova Rinse.

Note : Scissors with curved-end facilitate removing medulla.

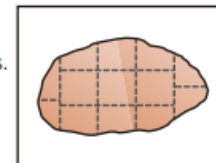
Note : Image of cutting off medulla is like lifting medulla as you cut it.

Do not rush and take time in this process, cutting it little by little.



4. Once you have cortex without medulla, use surgical knife and cut it into 1cm x 1cm size.

Notes : Remaining medulla at the rim of ovary can be removed after ovary is cut in pieces.

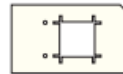


STEP 2 Preparing Ovary into Slices

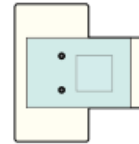
Method 2 For the following procedures, be careful not to dry the ovary and use Ova Rinse (Ref. 82215 Code. OVR-100).

Method 1 is recommended, but if you have difficulty, Square Measure can be used alternatively. It is an easier procedure, but disadvantage is that final number of ovarian tissue and oocytes collected from Ova Rinse may be reduced.

Square Measure is composed of 2 parts; A and B.

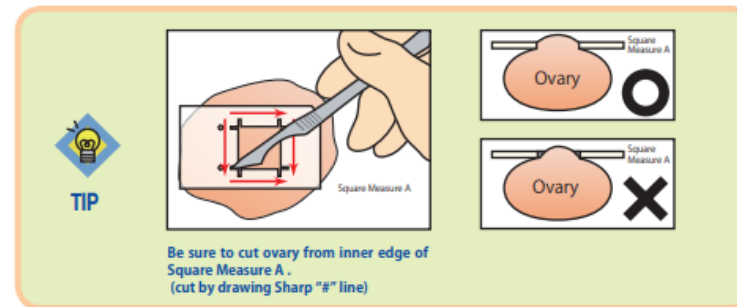


Square Measure A

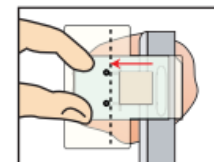
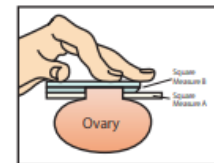


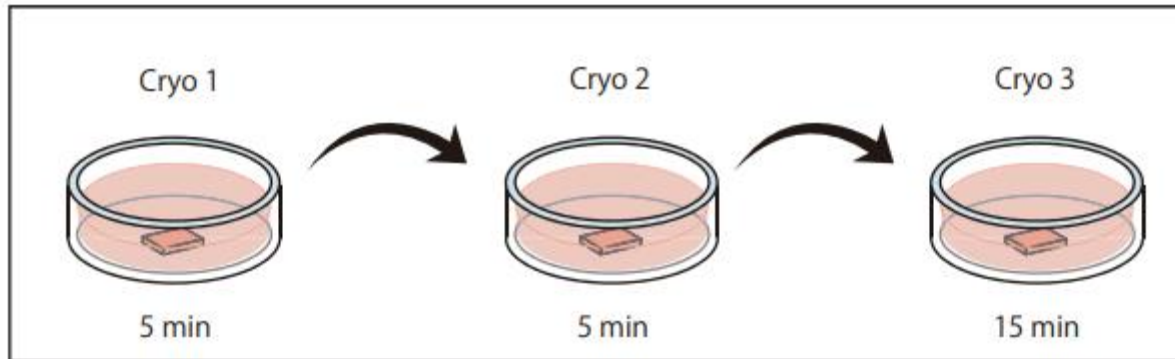
Square Measure B

1. Wipe the surface of ovary with sterilized gauze to prevent Square Measure from slipping on the its surface.
2. Place Square Measure A on the surface of the ovary with its metal part on the left.
3. Cut ovary along the inner edge of Square Measure A.



4. Attach Square Measure B to Square Measure A and press it on the ovary surface. Insert Microtome between Square Measure A and B, and slice the tissue until it reaches the metal stopper.
5. Detach the Square Measure and transfer the ovarian tissue into Ova Rinse to prevent it from drying.
6. Use scissors to cut off the remaining medulla until you get equal thickness of 1mm.



STEP 3**Equilibration of Ovarian Tissue**

Multiple ovarian tissues can be processed together in Cryo1, 2 and 3.

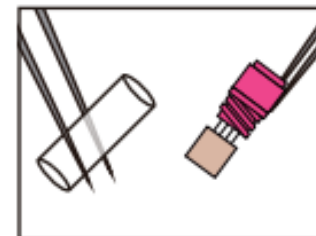
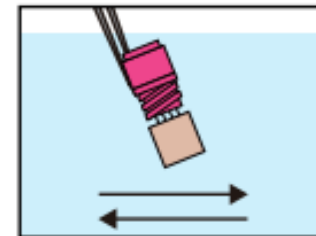
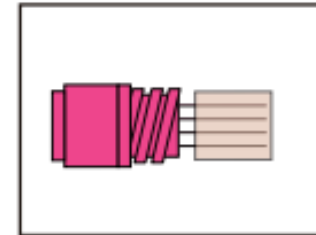
1. Wipe the ovarian tissue with gauze and transfer the tissue into Cryo1. Let the tissue remain in Cryo1 for 5 min.
2. Take the tissue in Cryo1, remove excess medium at the brim of the dish, and transfer it into Cryo2. Let the tissue remain in the Cryo2 for 5 min.
3. Take the tissue in Cryo2, remove excess medium at the brim of the dish, and transfer the tissue into Cryo3. Let the tissue remain in Cryo3 for 15 min.
4. Prepare ODT and liquid nitrogen while you wait for equilibration of ovarian tissue.

STEP 4

Vitrification of Ovarian Tissue

Open System

1. Prepare the number of ODT that matches the number of ovarian tissue prepared. Mark all ODT vials with patient ID and necessary information.
2. Wipe the ovarian tissue with gauze. Place the ovarian tissue on ODT spreading and maximizing its surface area. The ovarian tissue should be placed more to the metal tip to avoid placing it next to the cap part where metals are embedded. Leave 5mm space open from the cap part.
3. Hold the cap of ODT with tweezers and plunge into liquid nitrogen.



Note : Plunge ODT into liquid nitrogen from the surface ovarian tissue is placed on.

This will avoid the tissue from coming off ODT.

Note : In case ovarian tissue came off ODT, place the ovarian tissue in the vial first, then close the cap.

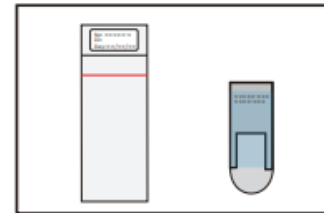
Note: After plunging ODT into liquid nitrogen, shake it about, removing the surrounding air.

STEP 4

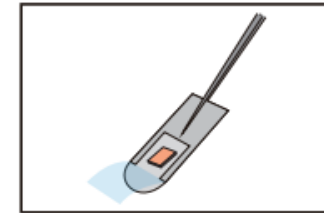
Vitrification of Ovarian Tissue

Closed System

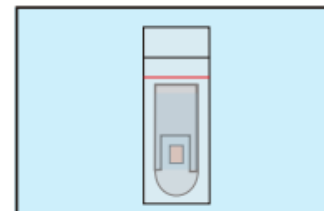
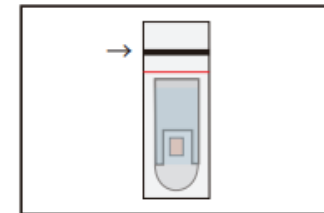
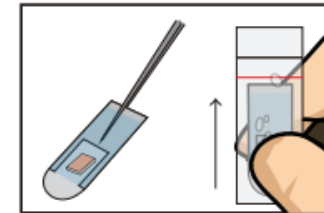
1. Prepare the number of CryoSheet with attached pouch that matches the number of ovarian tissue prepared. Mark all CryoSheet and pouches with patient ID and necessary information.
2. Wipe the ovarian tissue with gauze. Flip the film of the CryoSheet and place the ovarian tissue on it, spreading and maximizing its surface area.
3. Flip back the film and push out the air, using your finger or tweezers. Make sure the ovarian tissue is appressed against the film. Put the CryoSheet into the pouch and push out the air as well.



4. Seal the pouch at the black line with the heat sealer.



5. Hold the CryoSheet with a tweezer, and plunge it into the liquid nitrogen.

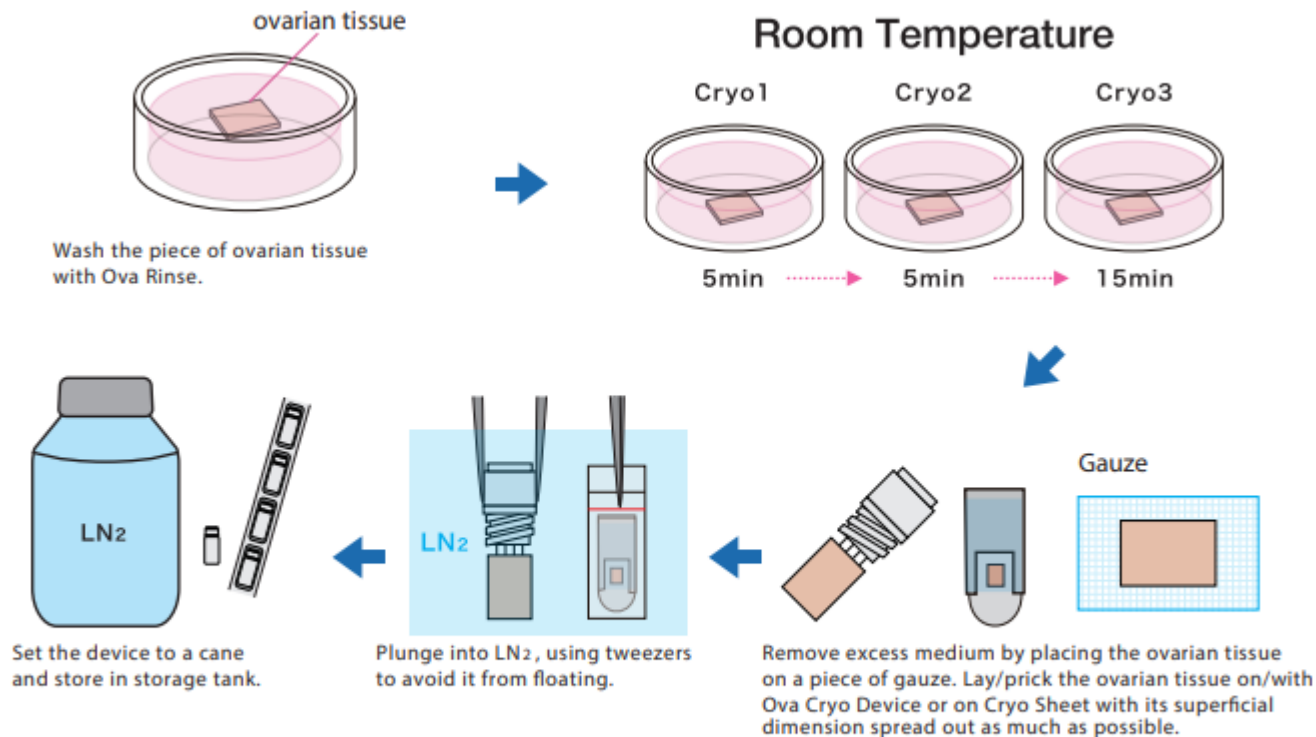


Note: Using the sealer with inappropriate temperature may cause the pouch to be ripped. Please use the sealer with the applicable temperature.

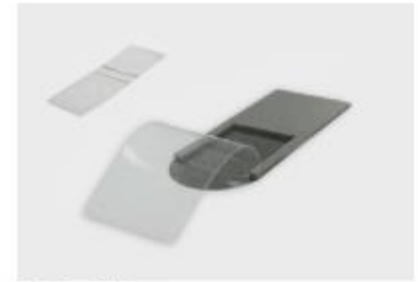
Note: After plunging CryoSheet into the liquid nitrogen, shake it about gently, removing the surrounding air.

Kitazato – Vitrifikace OvaCryoKit

<https://www.youtube.com/watch?v=yxuy-KniU24>



Ova Cryo Device Type M



Ova Cryo Sheet



Cane

POINT

Before vitrification of ovarian tissue, oocytes should be aspirated from the ovary. The oocytes shall be vitrified or fertilized first to vitrify the embryos.

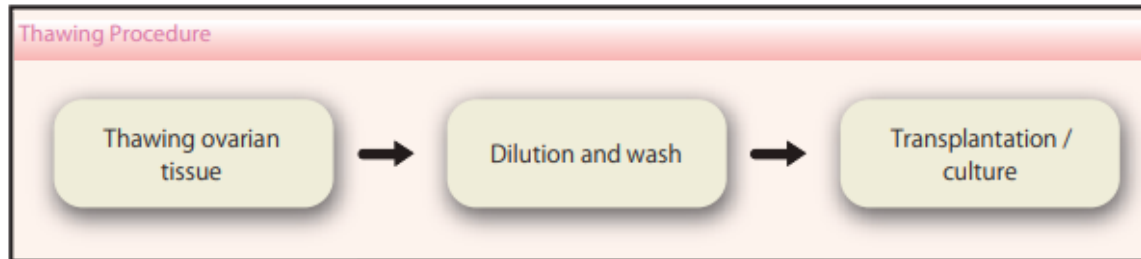
Thawing

Products Used

Ova Thawing Kit (Ref. 82222 Code. VT302S)

- Thaw 1: 100 mL x 1
- Thaw 2: 20 mL x 1
- Thaw 3: 20 mL x 1

Thawing Procedure



Materials Required

- Ova Cryo Kit (Ref. 8222 Code. VT302S)
- Liquid nitrogen with its container (e.g. styrofoam)
- Water bath
- Dish (OD 60mm - 100mm) x 2
- Container (110mL / 4.5 oz.)
- Tweezers (about 12cm) : for dilution and washing of ovarian tissue
- Tweezers (about 20cm) : for thawing procedure
- Timer
- Ova Culture (Ref.82216 Code.OVCL-100) or Ova Culture with HEPES (Ref.82217 Code. OVCM-100)
- Sterilized drape : to cover clean bench

【For Closed system】

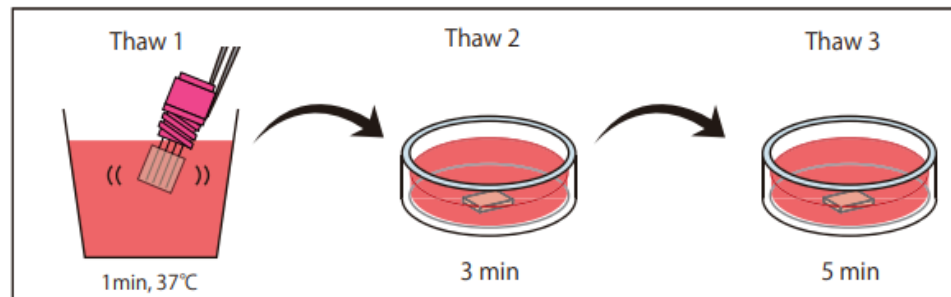
- Scissor : for cutting the pouch

STEP 1 Preparation

1. Put full content of Thaw1 in the container and warm it to 37°C in a water bath.
2. Bring Thaw 2 and Thaw 3 to room temperature (25 - 27°C).
3. Label dishes "Thaw 2" and "Thaw 3". Put full content of the media in the respective dishes.
4. Prepare liquid nitrogen next to the water bath. This is to speed up warming by minimizing the transferring time in air.

STEP 2 Thawing

Open System



1. Open ODT in liquid nitrogen with tweezers and remove the vial. Confirm the ovarian tissue on ODT cap.
2. Plunge ODT into Thaw 1 warmed to 37°C in the water bath. Shake ODT in Thaw1 to detach the ovarian tissue and immediately remove ODT from Thaw 1. The ovarian tissue should remain in Thaw 1 for 1 min.

Note : Take care to dip only the metal part of ODT into Thaw 1 to maintain the warm temperature.
3. Transfer the tissue from Thaw 1 into Thaw 2 at room temperature. Leave it in Thaw 2 for 3 min.
4. Transfer the tissue from Thaw 2 into Thaw 3 and leave it for 5 min.

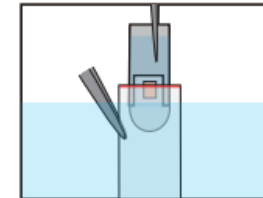
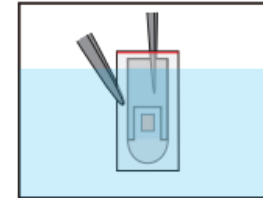
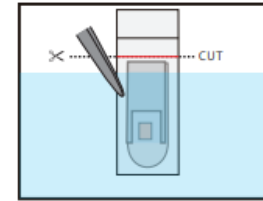
After 5 min in Thaw3, culture the tissue for recovery before transplantation. When implanting immediately after thaw, culture in OVCM-100 for 30 min. If you have longer time for recovery culture, use OVCL-100 in an incubator.

STEP 2 Thawing

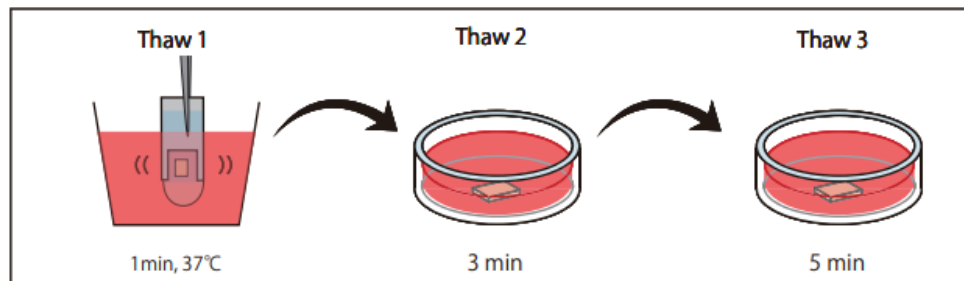
Closed System

1. In the liquid nitrogen, cut the sealed pouch at the red line.

Note: Avoid the CryoSheet having direct contact with the liquid nitrogen.
Do not immerse the whole pouch into the liquid nitrogen
nor tilt the pouch in an angle which the liquid nitrogen might get in.



2. Take out the CryoSheet from the pouch and transfer it into Thaw1 brought to 37°C in a water bath.

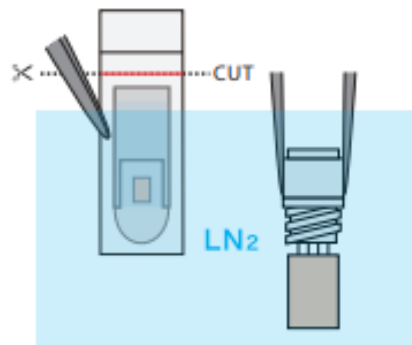


3. Transfer the tissue from Thaw 1 into Thaw 2 at room temperature.
Leave it in Thaw 2 for 3 min.
4. Transfer the tissue from Thaw 2 into Thaw 3 and leave it for 5 min.

After 5 min in Thaw3, culture the tissue for recovery before transplantation. When implanting immediately after thaw, culture in OVCM-100 for 30 min. If you have longer time for recovery culture, use OVCL-100 in an incubator.

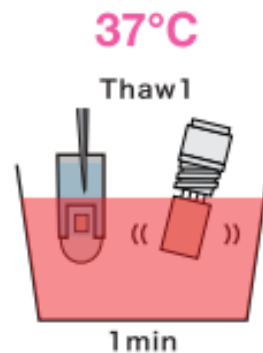
Kitazato rozmražení

Thawing Method

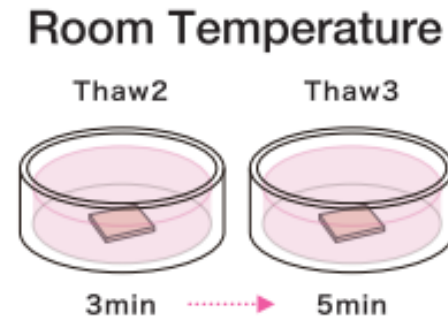


Take out the device in the LN2
And quickly plunge it into
Thaw 1

*Avoid the Cryo Sheet having
direct contact with the LN2



Shake the Ova Cryo Device
a little, in order to let the
ovarian tissue come off
in Thaw 1. For Cryo Sheet,
take off the film and
let the ovarian tissue come off.



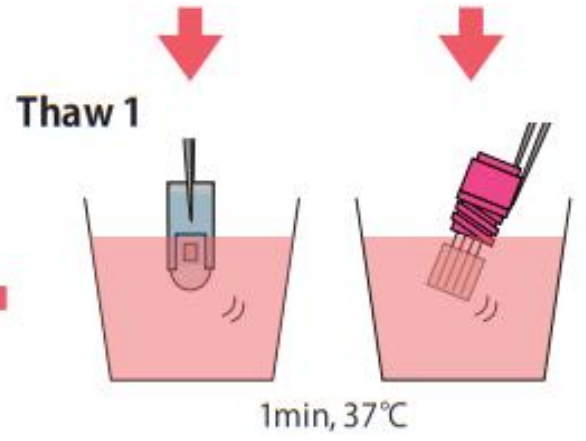
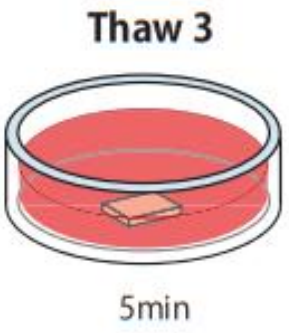
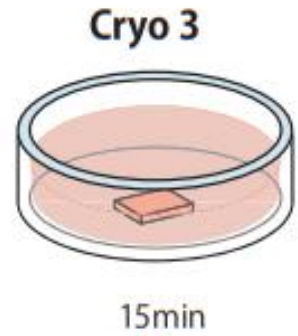
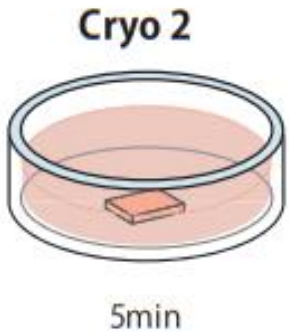
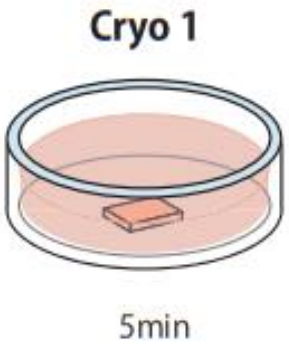
One minute later, quickly remove the ovarian tissue
from Thaw 1 into Thaw 2. Then, remove from Thaw 2
into Thaw 3 to thaw the ovary.



ovarian tissue

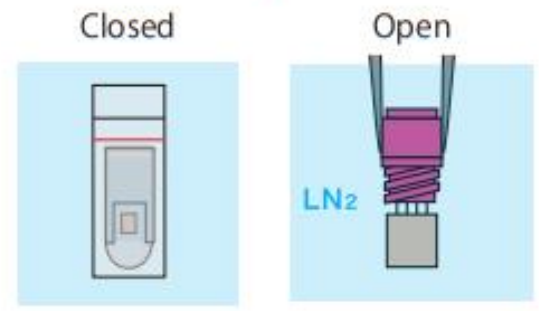


After Thaw 3, recover the ovarian tissue in
Ova Culture / Ova Culture with HEPES,
pre-warmed at 37°C.



OvaCryoKit Protocol

Ovarian Tissue Vitrification



Způsoby autotransplantace po kryokonzervaci

- existují dva způsoby transplantace ovariální tkáně:
- Ortotopická transplantace ovariální tkáně zahrnuje transplantaci ovariální tkáně zpět na její přirozené místo v těle s cílem umožnit přirozené těhotenství, v současné době je to nejúčinnější technika transplantace a vedla k řadě živě narozených dětí
- Heterotopická transplantace ovariální tkáně spočívá v transplantaci ovariální tkáně na jiné místo v těle, které umožňuje snadný přístup k vaječným buňkám, nejčastěji pod kůži předloktí nebo břicha

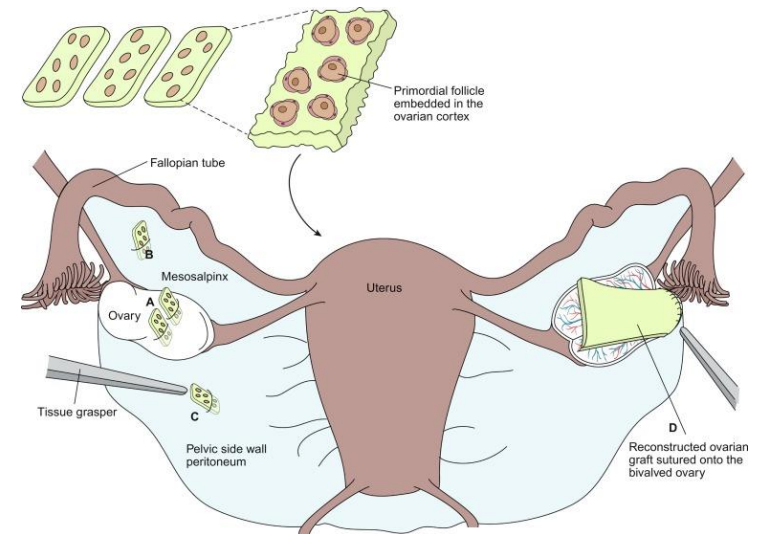
- vzhledem k tomu, že heterotopická transplantace se vyhýbá velkým operacím břicha, je tento přístup výhodný pro pacienty, u kterých může být opakovaná operace břicha komplikovaná
- nevýhodou – k početí je zapotřebí IVF

Ortotopická transplantace

Přenos 3-6 proužků ovariální tkáně o velikosti 1-1,5 mm buď do zbývající ovariální tkáně nebo do peritoneální duplikatury v ligamentum latum uteri

- 1) **zachování jednoho ovária** - nejprve provádí dekortikace ovaria a následně se přenáší rozmražená kortikální tkán k děni
- 2) **absence obou ovárií** – vytvoří se peritoneální okno v oblasti vazů a do něj se umístí proužky kortikální tkáně.

- při dostatečném množství tkáně lze provést transplantaci na dvě ortotopická místa
 -pokud jsou vejcovody a děloha nepoškozeny může dojít ke spontánnímu otěhotnění



Heterotopická transplantace

- méně efektivní

Provádí se na dobře přístupné části těla (předloktí, břišní či hrudní stěna)

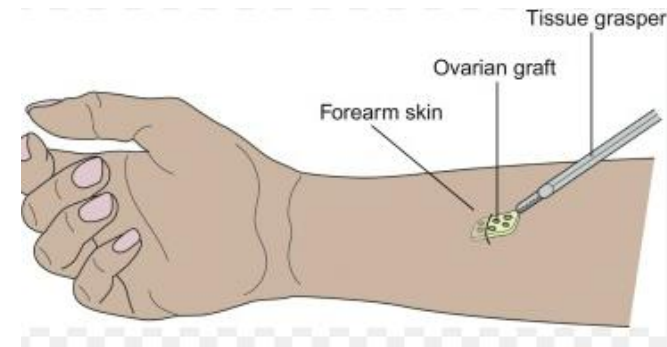
výhoda

- lze snadno monitorovat růst folikulů a oocytů a dále sledovat recidivu daného onkologického onemocnění

nevýhody

1) snížená funkčnost štěpu protože heterotopická místa jsou náchylná k neovaskularizaci

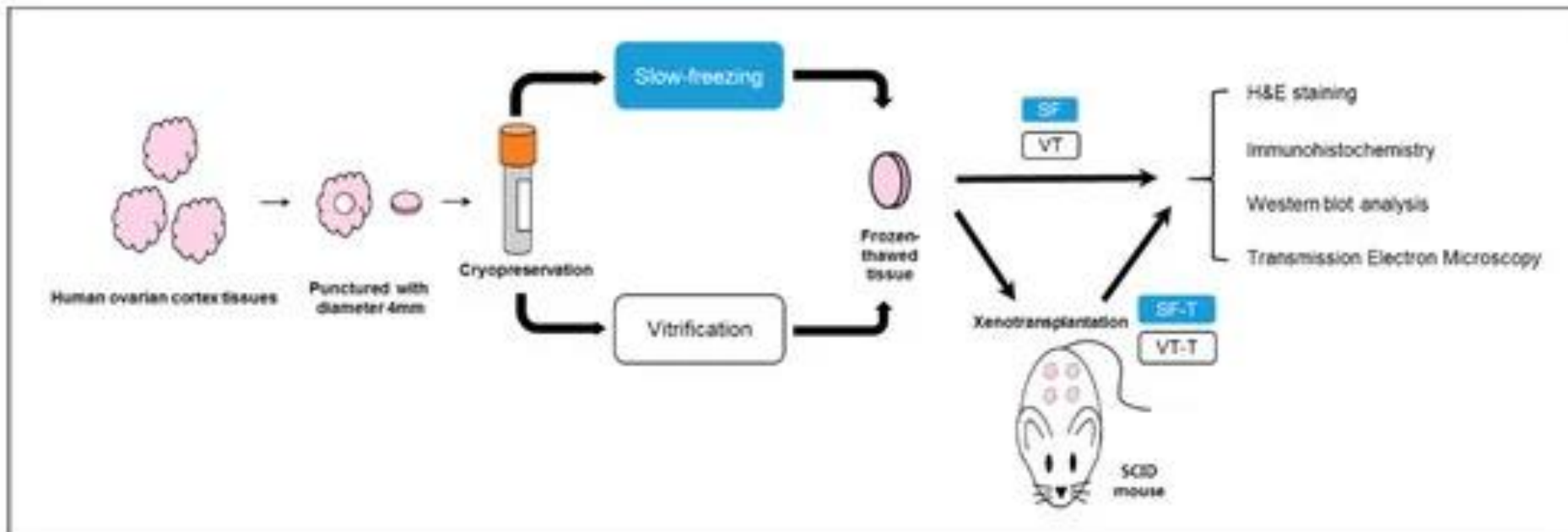
2) nemožnost spontánního otěhotnění a nutnost IVF



Xenotransplantace

Přenos proužků ovariální tkáně do imunodeficientní myši

Nejlepší výsledky popsány při transplantaci lidské ovariální tkáně do peritoneální dutiny a kapsuly myší ledviny – po transplantaci získány MII lidské oocyty



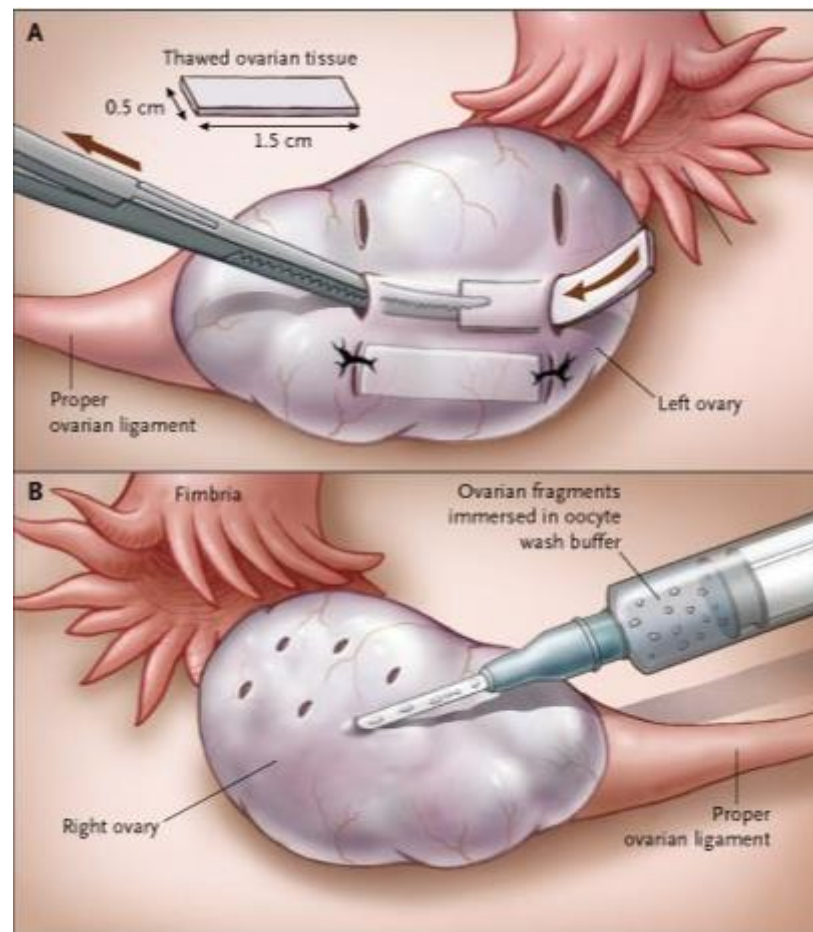
Uchycení transplantátu

- Klinicky obnovení menstruace u pacientek s iatrogenní amenorheou (cca 6 měsíců po transplantaci)
- Monitoring gonadotropinů – přihojení – pokles FSH
- Vhodné každý týden do poklesu FSH pod 20
- Sledování AMH – začne stoupat dříve než poklesne FSH
- Sledování transplatátu pomocí sonografie

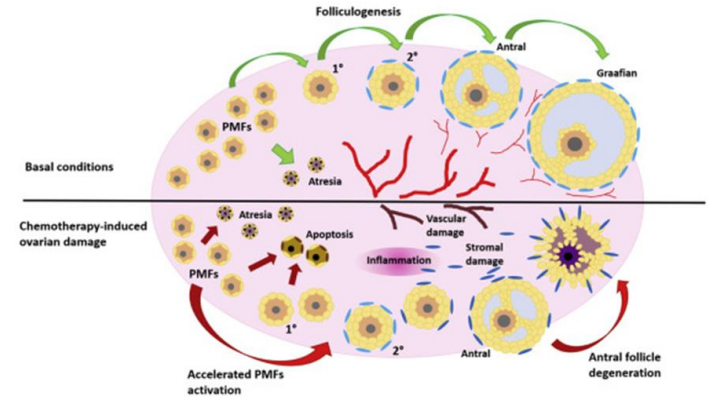


Kazuistika 2005 Izrael

- 28 let, chemo non-Hodgkin lymfom, amenorhea 24 měsíců, FSH 40-100, nedetekovatelné AMH a inhibin B
- po 24 měsících autotransplantace
- ovárium vlevo proužky ovarialní tkáně
- malé fragmenty do pravého ovária
- 8 měsíců poté menstruace
- UTZ preovulační folikul na levém ováriu
- 9 měsíců druhá menstruace
- FSH 7,9 IUI LH 6,8 E 118 pg PRG 0,5 ng
- Provedena punkce a získáno 1 vajíčko - IVF, 2. den ET 4b embryo, hCG pozitivní 12, den od ET, 38 týden CS holčička 3 kg



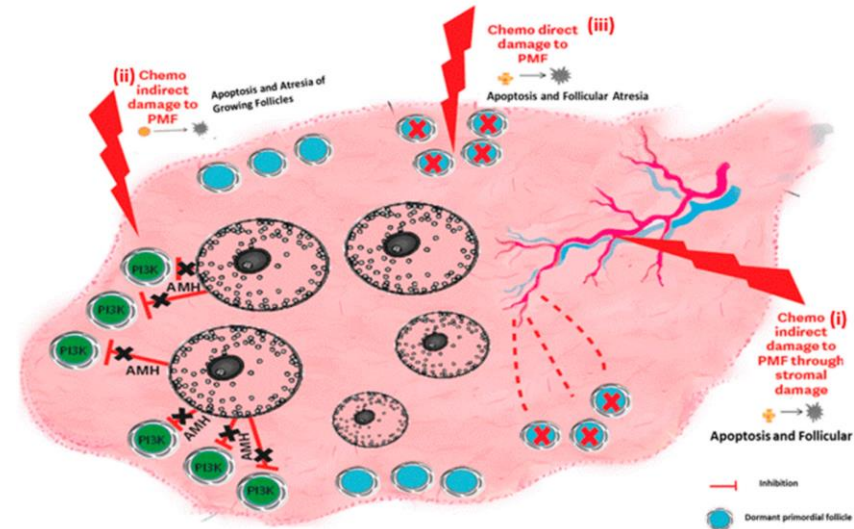
Chemoterapie – vliv na ovaria



- urychluje atrezii folikulů
- gonadální buňky jsou velmi citlivé na chemoterapii
- míra poškození závisí na typu nádoru, věku a typu chemoterapie
- ztráta ovariálních folikulů obsahujících ovariální buňky

Poškození ovárií při chemoterapii - rizika

- ztráta primordiálních folikulů [apoptózou](#)
- zrychlená aktivace primordiálních folikulů
- zvýšená [atrézie folikulů](#)
- zánět [v ovariálním stromatu](#)
- poškození [intraovariální vaskularizace](#)



- nepřímé poškození PMF prostřednictvím poškození stromatu
- nepřímé poškození PMF: chemoterapie indukuje aktivaci dráhy PI3K - atrézii rostoucích folikulů, čímž ruší sekreci AMH z atretického folikulu, což vede k odstranění suprese aktivace PMF. Tyto dvě akce způsobují vyčerpání folikulů masivní aktivací primordiálních folikulů.
- přímé poškození primordiálních folikulů: chemoterapie indukuje apoptózu přímo v PMF

Ovariální protekce před chemoterapií

- hormonálně inaktivované ovárium je méně citlivé k negativnímu efektu chemoterapie
- inhibice hypothalamo-hypofyzární osy aplikací GnRH analog vytvoří dočasné pre-pubertální hormonální prostředí v organizmu ženy reprodukčního věku během chemoterapie
- během aplikace GnRH analog je narušena produkce a vzestup FSH s následným snížením počtu dozrívajících primodiálních folikulů, které pak nejsou zničeny zásahem chemoterapeutik
- suprese ovariální funkce touto cestou nastupuje 7-10 dní po aplikaci
- před tím, ale dochází v důsledku flare-up fenoménu naopak k aktivaci folikulogeneze, a ke zvýšení senzitivity ovaria – aplikaci GnRH analog je tedy nutno zahájit dostatečně brzy nejlépe asi 10 dní před začátkem chemoterapie.

Riziko relapsu

- bezpečnostní otázky spojené s reimplantací ovariální tkáně pacientek s rakovinou jsou důvodem k obavám již mnoho let, řada studií zkoumala **rizika opětovného zavedení maligních buněk** spolu se zmrazenou a rozmraženou tkání vaječníků - recidivu primárního nádoru
- v roce 2010 bylo zveřejněno, že nejvyšší riziko šíření nádorových buněk v důsledku kryokonzervace ovariální tkáně je spojeno s **hematologickými malignitami, zejména leukémií**
- histologické vyšetření nedokázalo detekovat maligní buňky v ovariální tkáni, techniky PCR však prokázaly kontaminaci vaječníků u 33 % pacientek s chronickou myeloidní leukémií

Typ karcinomu – ochrana reprodukce

- **Karcinom prsu**

pokud nejsou při stagingu prokázány vzdálené metastázy (FIGO stádia I-III) je metastatické poškození ovaria buňkami karcinomu prsu velice vzácné

- **Karcinom děložního hrdla**

OPU není vhodné ani když je dost času – riziko diseminace onemocnění metastáze v ováriích jsou vzácné

v případě adjuvantní radioterapie se dělá transpozice ovárií mimo oblast iradiace v malé pánvi popř. kombinace 1 ovárium transpozice a 1 kryo

- **Nádory v dětském věku**

nelze ovariální stimulace, pouze kryokonzervace ovariální tkáně

po nástupu menarché – lze blokovat ovarium pomocí analog gonadoliberinu,

výhodné je udělat punkci před kryo a zamrazit GV oocyty + ovariální tkáň

Typ karcinomu – ochrana reprodukce

- **Karcinom kolorektální**

stimulace a kryo embryí/oocytů, kryokonzervace ovárií lze i transpozice

- **Transplantace kostní dřeně**

před transplantací chemoterapie, která zničí nejen kostní dřeň ale také všechny folikuly, stimulace a kryo embryí/oocytů, pokud není čas či u dětských pacientů kryo ovariální tkáň

- **Autoimunitní onemocnění**

systemový lupus erytrematodes, léčba pulzy cyklofosfamidu – vede k předčasnému ovariálnímu selhání

- **BRCA**

často profylaktická bilaterální ooforektomie, při kryokonzervaci je vhodné zvažovat heterotopickou transplantaci do podkoží – snazší monitorování, po graviditě transplantát odstranit

Doporučení odborných společností

– kritéria pro výběr pacientek pro kryo ovárií:

- věk pod 40 let
- nemožnost podstoupit IVF
- premenopauzální stav ovárií
- riziko ztráty ovariální funkce
- písemný informovaný souhlas
- pacient splňuje medicínská kritéria k provedení zákroku
- pacientka plánuje v budoucnu mateřství
- diagnostika hormonsenzitivního tumoru, kde je kontraindikovaná konvenční ovariální stimulace

Kazuistika – paní Jana 28 let

- Hodgkinův lymfom (HL) 09/2006
- 4 cykly chemoterapie + ozáření mediastina
- dostávala ochranu prostřednictvím analog GnRH s cílem zabránit POS
- po chemu obnovení menstruace
- 08/2007 relaps HL – metastáze, m. uzliny
- 3x chemo + celotělové ozáření + transplantace kostní dřeně
- rozvoj POS – nasazena substituční léčba

- 05/2008 pacientka spontánně otěhotněla a následně porodila
- v minulosti popsány případy těhotných žen po transplantaci kostní dřeně (čí je DNA narozených dětí?)

Doporučení odborných společností (ASRM)

Kritéria pro výběr vhodné techniky:

- **onkolog má informovat** pacienta o možnostech kryoprezervace
- ideální ustanovení **pracovní skupiny** (onkolog, gynekolog, embryolog, psycholog)
- pacientovi by měly být nabídnuty **všechny možnosti** reprodukční ochrany, dle jeho rozhodnutí by měly být použity tak, aby nedošlo ke zpoždění při léčbě nádorového onemocnění
- obavy ohledně možného **poškození dětí narozených po IVF** jsou neopodstatněné a neměly by být důvodem k odmítnutí

Závěr

- kryokonzervace ovariální tkáně může být poslední možností jak zachovat plodnost
- efektivita transplantací ovariálních štěpů není vysoká
- pokud lze získat vajíčka či embrya, tak je to mnohem efektivnější než kryokonzervace ovarii

MUNI
MED

Děkuji Vám za pozornost !

