

Kryokonzervace oocytů pro zachování ženské plodnosti

Cryopreservation of oocytes to preserve female fertility

A. Nesvadbová^{1,2}, Š. Machač¹, J. Bezdíček²

¹ IVF Clinic, a.s., Olomouc

² Přírodovědecká fakulta, UP v Olomouci

Souhrn: Cíl: Cílem studie je získat informace o úspěšnosti kryokonzervace lidských oocytů. Social freezing je metoda pro uchování plodnosti i v pozdějším věku, díky němuž mají ženy větší flexibilitu a možnost plánovat rodinu podle individuálních potřeb. Nicméně z důvodu nízké informovanosti a vysokým nákladům je tato metoda využívána v České republice minimálně. **Soubor a metodika:** V období od ledna 2018 do srpna 2024 bylo provedeno 93 odběrů oocytů u žen podstupujících hormonální stimulaci v rámci programu social freezing. Klientky byly rozděleny podle věku do dvou skupin: do 35 let a nad 35 let. Každá věková skupina byla dále rozdělena do dvou kategorií podle počtu vitrifikovaných oocytů: do 4 oocytů a nad 4 oocytů. Porovnali jsme úspěšnost metody vitrifikace oocytů klientek s úspěšností vitrifikace oocytů u zdravých anonymních dárců. **Výsledek:** V každé kategorii jsme vyhodnotili procento přežitých oocytů po ohřátí, tzv. survival rate (SR), procento oplozených oocytů, tzv. fertilization rate (FR), a procento získaných kvalitních blastocyst z oplozených zygot, tzv. utilization rate (UR). SR byl 61,5–89,3 %. Nejnižší hodnota je ve skupině klientek nad 35 let se ziskem oocytů do 4. FR byl 50,0–80,0 %. Nejnižší hodnota je opět ve skupině klientek nad 35 let se ziskem oocytů do 4. UR byl 34,9–75,0 %. Nejnižší hodnota je ve skupině klientek nad 35 let se ziskem oocytů nad 4. **Závěr:** Prokázali jsme, že věk ženy v době zmrazení oocytů a počet zamrazených oocytů zůstávají dvěma klíčovými faktory, které určují pravděpodobnost úspěšnosti dosažení možnosti mít vlastní dítě v budoucnosti.

Klíčová slova: vitrifikace – kryokonzervace – oocyt – plodnost

Summary: Objective: The aim of the study is to obtain information on the possibilities and success rate of cryopreservation of human oocytes. In the Czech Republic, this method is used to prolong women's reproductive health to a limited extent due to low awareness among women and also due to the high cost of this method. **Materials and methods:** Ninety-three oocyte retrievals were evaluated in women with oocyte retrievals intended for vitrification and long-term storage to extend reproductive age. Clients were divided according to age into two groups: under 35 years old and over 35 years old. At the same time, each age group was divided into two groups according to the number of vitrified oocytes: under 4 oocytes and over 4 oocytes. Furthermore, the success rate of the oocyte vitrification method was compared with the success rate of oocyte vitrification in healthy anonymous donors. **Results:** In order to obtain information on the success rate of the oocyte vitrification method, we evaluated the survival rate (SR), fertilization rate (FR) and utilization rate (UR) in each group. SR was 61.5–89.3%, with the lowest value in older clients with a low oocyte count. FR was 50.0–80.0%, where the lowest value was again seen in older clients with a low oocyte count. UR was 34.9–75.0%, where the lowest value was seen in the group of older clients with a higher vitrified oocyte count compared to the other groups. **Conclusion:** In conclusion, the age at the time of oocyte freezing and the number of stored oocytes remain the two key factors that determine the success rate to secure the possibility of having a child in the future.

Key words: vitrification – preservation – oocyte – fertility

Úvod

V posledních dvou desetiletích vedou společenské požadavky ženy k postupnému odkládání porodu tak, aby se snažily otěhotnět po třicítce nebo čtyřicítce, kdy problémy související s věkem významně snižují šanci na úspěch [1,2].

Nedávné pokroky v reprodukční medicíně, zejména v kryobiologii a zmrazování oocytů, otevřely nové možnosti těmto ženám, které mohou v mladším věku podstoupit ovariální stimulaci vyvolávající produkci více gamet a zmrazit získané zralé oocytů pro budoucí použití [1,3].

Zmrazení oocytů bylo převážně v minulých letech nabízeno ženám před zahájením onkologické léčby [4]. V současnosti je již možné mrazení oocytů nabídnout pacientkám s hrozícím předčasným ovariálním selháním, ženám patřícím do skupiny „poor ovarian

responders“ nebo pacientkám s endometriózou, která zhoršuje ovariální rezervu a může být spojena se snížením výtěžnosti oocytů po ovariální stimulaci [1,4]. Tyto ženy si během několika menstruačních cyklů mohou nastřádat větší množství zralých oocytů a později mohou vstoupit do léčby *in vitro* fertilizace (IVF), při níž se v jednom cyklu oplodní všechny nastřádané oocyty. Mrazení oocytů může být také nabídnuto pacientkám, u nichž v den odběru oocytů není možnost získat partnerské spermie nebo bylo odebráno velké množství oocytů [4]. Tato metoda může být také využívána při léčbě neplodnosti za použití dárcovských oocytů. Tvorba bank s dárcovskými oocyty nabízí výhodu pacientkám ve zkrácení čekací doby a větší možnosti při hledání nejlepší kompatibility dárkyně s léčeným párem [5].

V roce 2005 byla představena metoda vitrifikace oocytů a v mnoha publikacích se podařilo prokázat, že vitrifikace oocytů je z hlediska míry přežití a výsledků těhotenství lepší než pomalé zmrazování/rozmrazování [1,3] neboť prokázala vyšší počet živě narozených dětí (LBR – low birth rate).

V roce 2018 American Society for Reproductive Medicine (ASRM) popsala plánovanou kryokonzervaci oocytů jako eticky přípustnou léčbu, která může posílit reprodukční autonomii žen a podpořit sociální rovnost. Stárnutí vaječnicků je přirozený a fyziologický proces, který se vyznačuje úbytkem množství a kvality oocytů. S přibývajícím věkem ženy jsou tyto základní procesy nevratně narušeny a ženy starší 35 let se v důsledku tohoto s věkem souvisejícího poklesu kvality oocytů potýkají s nižší šancí na otěhotnění a porodu živého dítěte a vyšším rizikem potratů a vrozených vad [3]. Důležitým faktorem je optimální počet oocytů, které je třeba zmrazit, aby bylo možné po zahřátí a oplodnění oocytů, kultivaci a transferu embrya dosáhnout těhotenství.

Různé odborné skupiny se obávaly zdravotních problémů u dětí počatých

metodou asistované reprodukce (ART) po kryokonzervaci oocytů. První studii, která poskytla odpověď, provedli Noyes et al. v roce 2009, kteří nezaznamenali žádný významný rozdíl ve výskytu vrozených anomálií u dětí narozených po kryokonzervaci oocytů v porovnání s přirozeným početím. Jiná studie nezaznamenala žádný významný rozdíl v míře aneuploidii u embryí vzniklých z kryokonzervovaných oocytů ve srovnání s embryi získanými z čerstvých oocytů [1].

Vitrifikace je technika ultrarychlého chlazení [6]. Jde o ztuhnutí roztoku, který se rychle ochladí a z kapalné fáze se zformuje do sklovitého, vitrifikovaného stavu při nízké teplotě, a to nikoli krystalizací ledu, ale extrémním zvýšením viskozity během chlazení [7]. Cílem je v oocytech rychle nahradit většinu molekul vody kryoprotektanty. Po dehydrataci následuje velmi rychlé ochlazení (> 10 000 °C/min), které vede ke ztuhnutí obsahu buňky jako skla, při němž je plně zachována strukturální a funkční integrita oocytu [3]. Tato rychlost je závislá na typu nosiče a objemu a koncentraci kryoprotektiva [8]. Čím vyšší je koncentrace kryoprotektiv, tím vyšší je teplota při vitrifikaci (Tg), a tím se snižuje šance na tvorbu ledových krystalů, které následně poškozují samotné buňky. Každý typ kryoprotektiva má rozdílnou toxicitu, penetraci a Tg. Kombinace různých kryoprotektiv vedla ke zvýšení Tg a snížení toxicity. Další velkou roli hraje potřebný objem kryomédia při mrazení. Čím nižší je objem, tím vyšší je rychlost přenosu tepla, a tím usnadňují chlazení. Snížení objemu a zvýšení rychlosti chlazení umožňuje mírný pokles koncentrace kryoprotektiv, a tím snižuje toxicitu a nebezpečné osmotické účinky [9].

Zralé oocyty ve stadiu metafáze II jsou obzvláště citlivé na ochlazení, které může způsobit nevratné poškození membrány, ztvrdnutí zóny v důsledku předčasného uvolnění kortikálních granulí nebo abnormálního zvýšení

cytoplazmatických volných vápenatých iontů či dezorganizaci vřetenka se ztrátou nebo shlukováním mikrotubulů během procesu kryokonzervace [10]. Jejich citlivost je způsobena především jejich velikostí a vysokým obsahem vody [11].

Hlavní ochranu před možným poškozením představují specifické chemické sloučeniny, tzv. kryoprotektanty (CPA), které se přidávají do vitrifikačního média. CPA se dělí se na dva typy – penetrující a nepenetrující přes buněčnou membránu. Do skupiny penetrující patří nejčastěji používané ethylenglykol (EG), dimethylsulfoxid (DMSO), propylenglykol nebo 1,2-propandiol (PROH). Do skupiny nepenetrujících patří např. trehalóza, sacharóza, glukóza, polyvinylpyrrolidon (PVP) [2].

Pokud jde o vitrifikaci oocytů, bylo v průběhu let vyvinuto několik roztoků a protokolů. Kromě protokolu založeného na DMSO byl vyvinut vitrifikační systém sestávající z fosfátového pufovaného média doplněného 20 % lidského sérového albuminu (HSA) a glycerolu ve zvyšujících se koncentracích. Pro vitrifikaci lidských oocytů a embryí jsou oba systémy dobře zavedeny a představují současné a nejlepší životaschopné možnosti lišící se především přítomností, nebo nepřítomností DMSO. Nepřítomnost DMSO např. umožňuje pomalejší rychlost chlazení, větší objemy mikrokapiček a různé nosiče. Oocyty vyžadují rychlou manipulaci (< 1 min) a tento úkol mohou úspěšně provést pouze dobře vyškolení embryologové.

V současné době bylo popsáno více než 30 různých nosných nástrojů [5]. Povrchové nosiče se využívají při otevřeném systému, např. Cryoloop a Cryotop. Tento systém využívá minimální velikost kapky kryoprotektiva s vysokou rychlostí ochlazení a oteplení [12]. Slámkové nosiče byly vyvinuty pro uzavřené systémy. Mezi tento typ nosičů patří CryoTip, Rapid I nebo Cryopette. Při porovnání Cryotopu s CryoTipem bylo zjištěno, že uzavřené zařízení vykazuje lepší

míru přežití, ale u vitrifikovaných oocytů se objevila ooplazmatická vakuolizace, zduřelé mitochondrie a vysoký počet rozptýlených vezikul, což bylo pravděpodobně způsobeno méně rychlým poklesem teploty v uzavřeném nosiči.

Přestože existují důkazy, že riziko křížové kontaminace je zanedbatelné a na teoretické úrovni, stále se vedou diskuze na toto téma. Zatímco Antonouli et al. udávají, že screening kultivačního média a tekutého dusíku (LN2) na přítomnost virů HIV, hepatitidy B a hepatitidy C neprokázal přítomnost příslušných virů ve všech studovaných vzorcích, které byly vitrifikovány pomocí otevřeného zařízení Cryotop a také nebyla po 1–2 letech skladování materiálu pozorována kontaminace bakteriemi nebo plísněmi [5], Cai et al. uvádějí, že stále přetrvávají obavy v souvislosti s otázkami možné křížové kontaminace a přenosu nemocí zprostředkovaných LN2 a alternativou je uzavřená vitrifikace, u níž některé studie znamenaly snížení míry přežitelnosti oocytů. Někteří autoři naznačují, že „otevřená“ vitrifikace je lepší než „uzavřená“, pokud jde o míru přežití po rozmrazení. Jiní nezjistili mezi těmito dvěma metodami žádné statistické rozdíly [13].

Během zahřívání jsou vitrifikované oocyty vyjmuty z místa uložení a ponořeny do předehřátého média s vysokým obsahem sacharózy, po kterém následuje promytí v médiu s postupně nižší koncentrací sacharózy. Cílem zahřívání je rehydratace oocytů osmózou a postupná náhrada kryoprotektiv vodou. Pro mnohé je proces zahřívání důležitější než chlazení, protože během zahřívání může docházet také k tvorbě krystalů ledu, které mohou způsobit smrt buněk. Očekávaná míra obnovy po zahřátí oocytů se pohybuje od 80 do 90 % [3]. Dle autorů společnosti Alpha je minimální doporučení přežití oocytů 70 % [14].

Dalším ovlivňujícím faktorem vitrifikace je vliv osmotického stresu na buňku, který může vyvolat peroxidaci lipidů, poškození DNA a oxidaci proteinů. To vede k poškození plazmatické

Tab. 1. Rozdělení cyklů s vitrifikovanými oocyty dle věku klientky a počtu vitrifikovaných oocytů.

Tab. 1. Distribution of cycles with vitrified oocytes according to the age of the client and the number of vitrified oocytes.

Věk ženy	< 35 let		> 35 let	
	≤ 4	> 4	≤ 4	> 4
počet mražených oocytů v jednom cyklu				
počet cyklů	9	26	30	28
celkem mražených oocytů	19	366	57	397
průměrný počet oocytů na cyklus	2	14	2	14

membrány a organel, převážně mitochondrií, kdy dojde k vyčerpání adenosin trifosfátu (ATP) a spuštění vnitřní apoptické dráhy. Bylo prokázáno, že různé antioxidanty (glutathion, kyselina askorbová nebo koenzym Q10) přidané do kryomédií zmírňují oxidační stres spojený s vitrifikací oocytů u myši, ovcí i skotu [10].

Vitrifikace oocytů je vhodnou možností pro klientky, které chtějí chránit a zachovat svou budoucí plodnost [1]. Bohužel zmrazování vajíček pro sociální účely zůstává vzhledem k vysokým ekonomickým nákladům stále vhodnou volbou jen pro několik málo žen [15].

V procesu vitrifikace existuje mnoho proměnných, které mohou zásadně ovlivnit její účinnost a potenciál zlepšit míru přežití vitrifikovaných buněk [6]. Úspěch kryokonzervace nepřímo závisí na kvalitě kryokonzervovaných gamet, která zase závisí na odpovědi na léčbu ovariální stimulací [5]. Ve své práci zmiňuje Ursula Eischenlaub-Ritter řadu faktorů, které ovlivňují funkčnost stárnoucích oocytů, a potvrzuje, že mírnější hormonální stimulace snižuje aneuploidii oocytů [16]. U žen nad 35 let je patrné zhoršení kvality oocytů, které mají nižší schopnost opravy DNA ve srovnání s mladšími oocyty. Neúplná oprava DNA ve stárnoucích oocytech vede k poškození integrity a dělení chromozomů, čímž se zhoršuje kvalita oocytů.

Oocyty patří mezi nejdéle žijící buňky v těle a musí si zachovat svou cytoplazmu, aby podporovaly správný embryonální vývoj [17]. Z toho důvodu jsou věk v době zmrazení a počet

uskladněných oocytů dvěma klíčovými faktory, které určují výsledky. Odhaduje se, že k dosažení těhotenství je zapotřebí v průměru 20 oocytů, přičemž minimální navrhovaný počet je osm až deset. U žen podstupujících uchování plodnosti před 35. rokem věku se očekává vyšší výtěžnost oocytů s menším počtem cyklů ovariální stimulace a vyšší počet živě narozených dětí oproti ženám starším 35 let [3].

Materiál a metodika

V období od ledna 2018 do srpna 2024 jsme zamrazili metodou vitrifikace Kitazato 839 oocytů od 85 klientek ve věku 18–48 let. U osmi klientek jsme vitrifikovali oocyty z více cyklů. V jednotlivých cyklech bylo zmrazeno 1–39 zralých oocytů. Pro vyhodnocení úspěšnosti zisku a vitrifikace oocytů jsme rozdělili klientky do dvou věkových skupin: do 35 let a nad 35let.

U žen ve věku do 35 let bylo celkem zamrazeno 385 oocytů z 35 cyklů. Z těchto cyklů bylo 9 cyklů s vitrifikací 1–4 oocytů a 26 cyklů s vitrifikací 5–38 oocytů.

U žen ve věku nad 35 let bylo celkem zamrazeno 454 oocytů z 58 cyklů. Z těchto cyklů bylo 30 cyklů s vitrifikací 1–4 oocytů a 28 cyklů s vitrifikací 5–39 oocytů (tab. 1).

Výsledky

Celkem jsme rozmrazili 210 oocytů z 32 cyklů od 26 klientek. Celkově přežilo 169 oocytů, tzn. survival rate (SR) byl 80,5 %. Všechny přeživší oocyty byly oplozeny metodou intracytoplazmatické injekce spermie (ICSI) za použití partnerských či dárcovských spermií.

Tab. 2. Rozdělení cyklů s ohřátím oocytů dle věku klientky a počtu vitrifikovaných oocytů.

Tab. 2. Distribution of cycles with oocyte warming according to the age of the client and the number of vitrified oocytes.

Věk ženy	< 35 let		> 35 let		Darované oocytů
	≤ 4	> 4	≤ 4	> 4	> 4
počet oocytů					
počet klientek	4	4	8	10	196
celkový počet ohřátých oocytů	6	42	26	136	1 983
Survival rate % (SR)	83,3 %	83,3 %	61,5 %	83,1 %	89,3 %
počet oplozovaných oocytů	5	35	16	113	1 771
počet oplozených oocytů	4	27	8	86	1 401
Fertilization rate % (FR)	80,0 %	77,1 %	50,0 %	76,1 %	79,1 %
počet embryí k embryotransferu nebo vitrifikaci	2	14	6	30	575
Utilization rate % (UR)	50,0 %	51,9 %	75,0 %	34,9 %	40,5 %

Celkově bylo oplozeno 125 oocytů, tzn. fertilization rate (FR) byl 74,0 %. Embrya byla kultivována do 3.–6. dne kultivace a všechna získaná kvalitní embrya byla transferována nebo zamrazena. Celkově bylo získáno 52 kvalitních embryí, tzn. utilization rate (UR) byl 41,6 %.

Ve sledovaném období bylo provedeno jedenáct čerstvých embryotransferů, z nichž otěhotněly tři klientky. Jedna klientka porodila zdravé dítě a u dvou klientek došlo k těhotenské ztrátě. Dále bylo provedeno 18 kryoembryotransferů, z nichž otěhotnělo šest klientek. Čtyři klientky porodily zdravé dítě a u dvou klientek došlo k těhotenské ztrátě.

Sedm klientek požádalo o ukončení uchovávání vitrifikovaných oocytů, a to v době 11–33 měsíců od vitrifikace. Dvě klientky požádaly o export jejich vitrifikovaných oocytů do jiné IVF kliniky. V tab. 2 jsou uvedeny výsledky SR, FR a UR v jednotlivých věkových skupinách (do 35 let a nad 35 let). Každá věková skupina byla dále rozdělena do dvou kategorií podle počtu vitrifikovaných oocytů: do 4 oocytů a nad 4 oocytů. Porovnali jsme úspěšnost metody vitrifikace oocytů klientek s úspěšností vitrifikace oocytů u zdravých anonymních dárek za stejné časové období.

Z výsledků úspěšnosti metodiky vitrifikace oocytů plyne, že nejnižší úspěšnost SR a FR byla ve skupině pacientek > 35 let s 1–4 vitrifikovanými oocytů.

Nejnižší úspěšnost UR byla ve skupině pacientek > 35 let s > 4 vitrifikovanými oocytů.

Dosažené výsledky úspěšnosti SR, FR a UR u skupiny zdravých dárek oocytů odpovídají doporučením odborných společností ESHRE a Alpha. SR minimálně 70 %, FR minimálně 65 % [14,18].

Ze získaných dat SR, FR a UR u skupin pacientek s vlastními oocytů vyplývá, že úspěšnost metodiky vitrifikace oocytů je nejen závislá na věku ženy, ale také na počtu zamrazených oocytů.

Diskuze

Z praxe vyplývá, že mnoho žen nadhodnocuje možnosti přirozeného početí ve vyšším věku i úspěšnost asistované reprodukce. Pro zamrazení oocytů se často ženy rozhodnou až poté, co zjistí, že se snižuje jejich reprodukční zdraví, např. při výskytu endometriózy nebo nízké ovariální rezervy, zpravidla kolem 37. roku [19]. To podporuje nutnost včasné edukace a zavedení preventivních screeningových programů reprodukčního zdraví.

Při klinickém rozhodování je nezbytné zohlednit nejen věk, ale také charakter ovariální odpovědi. Kvalita gamet i spermií významně ovlivňuje výslednou kvalitu embryí, přičemž rozmrazení může tento parametr dále zhoršit [3]. U žen se špatnou ovariální rezervou je vhodné zvážit kumulaci oocytů z více stimulačních cyklů.

Naše dosažené výsledky odpovídají výsledkům studie prof. Garratta: SR 84 %, FR 71 % a UR 37 % [20], přičemž nejvyšší úspěšnosti bylo dosaženo u skupiny žen, které podstoupily vitrifikaci před 35. rokem věku (SR 83 %, FR 78 %, UR 51 %). Cobo et al. ve své práci potvrzují, že se zvyšujícím se počtem MII oocytů roste i pravděpodobnost živě narozeného dítěte, zejména u mladších žen [19]. Chatziparasidou očekává u žen podstupujících tzv. social freezing před 35. rokem věku vyšší výtěžnost oocytů s menším počtem cyklů ovariální stimulace a vyšší počet živě narozených dětí, což posiluje význam věku pro uchování plodnosti [3].

Z biologického hlediska zůstává vitrifikace v mladším věku optimální strategií nejen pro dosažení jednoho, ale potenciálně i druhého dítěte. U žen starších 40 let je nutné zohlednit vyšší podíl aneuploidii embryí (až 80 %) a diskutovat také možnost použití darovaných oocytů.

Chang et al. uvádějí, že věk ženy v době kryokonzervace je klíčovým faktorem úspěchu, nikoli samotný protokol vitrifikace či hormonální stimulace [21]. To koresponduje s našimi zjištěními, že věk a počet uchovaných MII oocytů představují hlavní prediktory klinického výsledku.

Chatziparasidou odhaduje, že k dosažení jednoho živě narozeného dítěte je průměrně zapotřebí 20 oocytů,

přičemž minimální počet se pohybuje mezi 8 a 10 [3]. Kavasen et al. dále specifikují, že u žen mladších 38 let postačuje 10–15 oocytů, zatímco u žen ve věku 38–40 let doporučuje mít uchováno 25–30 oocytů. V souladu s literaturou klesá LBR s rostoucím věkem, zatímco potřebný počet rozmražených oocytů pro dosažení porodu se zvyšuje [22–24]. Jak upozorňují Kasaven et al. [23], přeceňování šancí na úspěch může vést k emočním a psychologickým následkům, zejména u žen s nízkým počtem uchovaných oocytů.

V souladu s doporučeními odborných společností (ESHRE, Alpha) dosahovala skupina s darovanými oocyty hodnot FR nad doporučenou hranicí 65 %. Výsledky skupin s vlastními oocyty však mohly být ovlivněny menším počtem případů a variabilitou mezi pacientkami.

Technická variabilita mezi laboratorními a embryology i nadále představuje rizikový faktor, zejména u starších žen, u kterých i malá ztráta životaschopných oocytů může výrazně snížit šanci na těhotenství [3]. Navzdory těmto omezením zůstává kryokonzervace oocytů v mladším věku efektivní strategií pro zachování reprodukčního potenciálu.

Mezi omezení naší studie patří retrospektivní charakter, analýza z jednoho centra a nízký počet klientek, které zatím použily své uchovávané oocyty, což je běžný jev i v mezinárodním kontextu. Rovněž nebyla provedena kontrola některých proměnných, jako jsou přidružené diagnózy ovlivňující plodnost. Také postupy při rozmrazování se u našich pacientek značně lišily. Některé rozdělily oocyty do více cyklů, jiné kombinovaly oocyty z více

cyklů do jednoho rozmrazování. U některých byl plánován čerstvý transfer, u jiných bylo v plánu provedení preimplantační genetické testování (PGT).

Závěr

Vitrifikace oocytů nabízí ženám efektivní nástroj pro zachování reprodukčního potenciálu, který však není zárukou budoucího mateřství. Výsledky musí být vždy interpretovány v kontextu věku ženy, její ovariální rezervy a celkové výtečnosti oocytů.

Literatura

- Sciorio R, Pluchino N, Fuller BJ. Review of human oocyte cryopreservation in ART programs: current challenges and opportunities. *Cryobiology* 2023; 113: 104590. doi: 10.1016/j.cryobiol.2023.104590.
- Fouks Y, Sakkas D, Bortoletto PE et al. Utilization of cryopreserved oocytes in patients with poor ovarian response after planned oocyte cryopreservation. *JAMA Netw Open* 2024; 7(1): e2349722. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.49722.
- Chatziparasidou A. Improving oocyte freezing for advanced maternal age. *J Reprod Med Embryol* 2024; 1(1): 10–17. doi: 10.21608/jrme.2024.261045.1003.
- Cobo A, Domingo J, Pérez S et al. Vitrification: an effective new approach to oocyte banking and preserving fertility in cancer patients. *Clin Transl Oncol* 2008; 10(5): 268–273. doi: 10.1007/s12094-008-0196-7.
- Antonouli S, Di Nisio V, Messini C et al. A comprehensive review and update on human fertility cryopreservation methods and tools. *Front Vet Sci* 2023; 10: 1151254. doi: 10.3389/fvets.2023.1151254.
- Liebermann J, Nawroth F, Isachenko V et al. Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biol Reprod* 2002; 67(6): 1671–1680. doi: 10.1095/biolreprod.102.006833.
- Fahy GM, MacFarlane DR, Angell CA et al. Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology* 1984; 21(4): 407–426. doi: 10.1016/0011-2240(84)90079-8.

- Yavin S, Arav A. Measurement of essential physical properties of vitrification solutions. *Theriogenology* 2007; 67(1): 81–89. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.09.029.
- Arav A, Natan Y, Levi-Setti PE et al. New methods for cooling and storing oocytes and embryos in a clean environment of -196°C . *Reprod Biomed Online* 2016; 33(1): 71–78. doi: 10.1016/j.rbmo.2016.03.010.
- Olexiková L, Dujíčková L, Makarevich AV et al. Glutathione during post-thaw recovery culture can mitigate deleterious impact of vitrification on bovine oocytes. *Antioxidants* 2022; 12(1): 35. doi: 10.3390/antiox12010035.
- Arav A, Natan Y. Vitrification of oocytes: from basic science to clinical application. *Adv Exp Med Biol* 2013; 761: 69–83. doi: 10.1007/978-1-4614-8214-7_6.
- Aye M, Di Giorgio C, De Mo M et al. Assessment of the genotoxicity of three cryoprotectants used for human oocyte vitrification: dimethyl sulfoxide, ethylene glycol and propylene glycol. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(7): 1905–1912. doi: 10.1016/j.fct.2010.04.032.
- Cai H, Niringiyumukiza JD, Li Y et al. Open versus closed vitrification system of human oocytes and embryos: a systematic review and meta-analysis of embryologic and clinical outcomes. *Reprod Biol Endocrinol* 2018; 16(1): 123. doi: 10.1186/s12958-018-0440-0.
- Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Alpha consensus meeting on cryopreservation key performance indicators and benchmarks: proceeding of an expert meeting. *Reprod Biomed Online* 2012; 25(2): 146–167. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.05.006.
- Katsani D, Paraschou N, Panagouli E et al. Social egg freezing – a trend or modern reality? *J Clin Med* 2024; 13(2): 390. doi: 10.3390/jcm13020390.
- Eichenlaub-Ritter U. Oocyte ageing and its cellular basis. *Int J Dev Biol* 2012; 56(10–12): 841–852. doi: 10.1387/ijdb.120141ue.
- Sharma N, Coticchio G, Borini A et al. Changes in DNA repair compartments and cohesin loss promote DNA damage accumulation in aged oocytes. *Curr Biol* 2024; 34(22):

Publikační etika: Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

Publication ethics: The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE uniform requirements for biomedical papers.

Konflikt zájmů: Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie/práce nemají žádný konflikt zájmů.

Conflict of interests: The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning the drugs, products or services used in the study.

Dedikace: Článek vznikl s podporou projektu IGA_PrF_2025_031 a 2024_029.

Dedication: The article was created with the support of the project IGA_PrF_2025_031 and 2024_029.

5131.e6–5148.e6. doi: 10.1016/j.cub.2024.09.040.

18. ESHRE Special Interest Group of Embryology, Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of art laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online* 2017; 35(5): 494–510. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.06.015.

19. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A et al. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril* 2016; 105(3): 755.e8–764.e8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.11.027.

20. Garratt J, Shah T, McLaughlin A et al. Clinical outcomes of vitrified-warmed autologous oocyte cycles with 15-year follow-up at a single UK centre: consistent and predictable results. *Re-*

prod Biomed Online 2025; 50(1): 104376. doi: 10.1016/j.rbmo.2024.104376.

21. Chang CC, Shapiro DB, Nagy ZP. The effects of vitrification on oocyte quality. *Biol Reprod* 2022; 106(2): 316–327. doi: 10.1093/biolre/ioab239.

22. Cobo A, García-Velasco JA, Remohí J et al. Oocyte vitrification for fertility preservation for both medical and nonmedical reasons. *Fertil Steril* 2021; 115(5): 1091–1101. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.02.006.

23. Kasaven LS, Jones BP, Heath C et al. Reproductive outcomes from ten years of elective oocyte cryopreservation. *Arch Gynecol Obstet* 2022; 306(5): 1753–1760. doi: 10.1007/s00404-022-06711-0.

24. Kawwass JF, Crawford S, Hipp HS. Frozen eggs: national autologous oocyte thaw out-

comes. *Fertil Steril* 2021; 116(4): 1077–1084. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.05.080.

ORCID autorů

A. Nesvadbová 0000-0001-7854-4268

J. Bezdíček 0000-0002-0700-5440

Doručeno/Submitted: 21. 8. 2025

Přijato/Accepted: 22. 10. 2025

Ing. Andrea Nesvadbová

IVF Clinic a.s.

Horní Lán 1328/6

779 00 Olomouc

andrea nesvadbova@gmail.com