

Možnosti ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících léčbu cytotoxickými léky

P. Němec¹, M. Huser², M. Souček¹

¹ *Revmatologická ambulance II. interní kliniky Lékařské fakulty MU a FN u sv. Anny Brno, přednosta doc. MUDr. Miroslav Souček, CSc.*

² *Centrum asistované reprodukce CAR 01 Gynekologicko-porodnické kliniky Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště reprodukční medicíny, přednosta prof. MUDr. Pavel Ventruha, DrSc.*

Souhrn: Terapie závažných orgánových postižení u systémových chorob pojiva a systémových vaskulitid vyžaduje často použití cytostatik. K závažným nežádoucím účinkům těchto léků patří i nevratné poškození zárodečné tkáně gonád. Na rozdíl od jiných rychle proliferujících tkání organismu bývá poškození ovarií většinou nevratné, a to v důsledku předem determinovaného počtu ovariálních folikulů při narození. Destrukce folikulů vede k primární ovariální nedostatečnosti a k rozvoji následné neplodnosti s příznaky klimakterického syndromu. Otázka ochrany ovariálních funkcí není dosud zcela vyřešena. V následujícím textu je podán přehled současných možností ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících léčbu cytotoxickými léky zahrnující moderní metody asistované reprodukce a nové možnosti farmakologické ochrany ovarií využívající analoga gonadoliberinu.

Klíčová slova: asistovaná reprodukce – GnRH analoga – neplodnost – systémové onemocnění pojiva

The options for preserving reproductive functions in women undergoing cytostatic therapy

Summary: The therapy of serious organ damages in systemic connective tissue diseases and systemic vasculitis often requires the use of cytostatics. The serious adverse events associated with such therapy include irreversible damage to the foetal gonadal tissue. Unlike in the case of other fast proliferating tissues of the human body, damage to the ovaries is mostly irreversible, due to the predetermined number of ovarian follicles at birth. Destruction of follicles causes primary ovarian insufficiency and the subsequent sterility with climacteric syndrome symptoms. The issue of preserving ovarian function has not yet been fully resolved. The paper provides an overview of current options for the preservation of reproductive functions in women undergoing cytostatic therapy which include modern techniques of assisted reproduction and new methods of pharmacological protection of the ovaries using gonadoliberin analogues.

Key words: assisted reproduction – GnRH analogues – sterility – systemic connective tissue disease

Úvod

Některá onemocnění, se kterými se revmatolog setkává ve své praxi, zejména systémová onemocnění pojiva nebo systémové vaskulitidy a současně terapie těchto onemocnění, jsou významnými faktory, které mohou způsobit úplnou ztrátu plodnosti. V terapii těchto onemocnění jsou často používána cytostatika [1]. K závažným nežádoucím účinkům zejména alkylačních cytostatik patří i nevratné poškození zárodečné tkáně gonád. Na rozdíl od jiných rychle proliferujících tkání organismu bývá poškození ovarií většinou nevratné, a to v důsledku předem determinovaného počtu ovariálních folikulů při narození. Destrukce

folikulů vede k primární ovariální nedostatečnosti a k rozvoji následné neplodnosti s příznaky klimakterického syndromu. Otázka ochrany reprodukčních funkcí u žen není dosud zcela vyřešena.

Předčasné ovariální selhání (premature ovarian failure – POF) je častým dlouhodobým následkem cytostatické léčby. Klinicky je definováno jako vymizení menzes po dobu delší než 6 měsíců u ženy mladší 40 let s elevací sérových hladin gonadotropinů – folikulo stimulujícího hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH) – nad 20 IU/l. Z důvodu předem determinovaného počtu ovariálních folikulů při narození bývá poškození ovarií větši-

nou nevratné. Destrukce folikulů vede k primární ovariální insuficienci a následné sterilitě s příznaky klimakterického syndromu [2].

Mechanismus nepříznivého účinku alkylačních cytostatik na ovariální tkáň není dosud zcela objasněn. Předpokládá se zejména toxické působení na buňky membrana granulosa nebo oocyt, vedoucí ke konečné atézii folikulu. Cyklofosfamid zasahující do buněčného cyklu převážně rychle se množících buněk působí na buňky membrana granulosa, jejichž dělení probíhá pod kontrolou hypofyzárních gonadotropinů. Nepřímé důkazy naznačují, že právě gonadotropní stimulace je předpokladem pro negativní

Tab. 1. Přehled jednotlivých metod ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících cytotoxickou léčbu.

Metoda	Výhody	Nevýhody
Kryokonzervace gamet	– rozšířená metoda – zkušenosti	– zpoždění terapie 3–4 týdny – nutnost hormonální stimulace – nízká úspěšnost dosažení fertility – omezená kapacita kryobanky
Kryokonzervace embryí	– zkušenosti – nejvyšší úspěšnost dosažení fertility	– dobrý zdravotní stav – zpoždění terapie 3–4 týdny – nutnost hormonální stimulace – existence a souhlas partnera s provedením IVF a poskytnutím spermií
Kryokonzervace ovariální tkáně	– bez nutnosti hormonální stimulace	– nutnost laparoskopického odběru – in vitro maturace nezralých oocytů – málo zkušeností (experimentální metoda)
GnRH analogy	– neinvazivní metoda – dlouhodobá ochrana ovarií s možností opakované fertility – omezení krevních ztrát (amenorea)	– přechodné zvýšení sekrece gonadotropinů po dobu 7–10 dnů tzv. flare-up fenomén – zatím nejisté výsledky provedených studií

působení cytostatické léčby na ovarium. Její podávání vede k rychlému zániku již zralých folikulů, následnému nástupu dozrávání ještě nezralých folikulů a urychlení deplece počtu primordiálních folikulů [3].

Riziko rozvoje POF u žen podstupujících léčbu cytotoxickými léky závisí zejména na věku pacientky, typu použitého gonadotoxického agens, použitém léčebném režimu a dosažené kumulativní dávce. Gonadotoxický účinek cytostatik je rozdílný. Mezi látky s nejsilnějším gonadotoxickým účinkem patří alkylační cytostatika (cyklofosfamid, chlorambucil, busulfan). Uvádí se, že kumulativní dávka 20 g cyklofosfamidu je asociována s rozvojem POF až u 50 % 20letých patientek s autoimunitním onemocněním podstupujících cytotoxickou léčbu [4–6]. Naopak metotrexát vykazuje minimální nežádoucí vliv na folikulární aparát ovarií.

Klinicky se poškození ovarií u ženy v reprodukčním věku projeví jako sekundární amenorea nebo oligomenorea, která se po skončení léčby může

spontánně upravit. U některých žen zvláště po 30. roku života dochází však k trvalé amenoree a k rozvoji POF s obrazem hypergonadotropního hypogonadizmu [7]. Moderní metody asistované reprodukce (AR) mohou dnes nabídnout pacientkám se závažnými systémovými chorobami pojištění na vlastní rodinu. V posledních letech jsou usilovně vyvíjeny i postupy k prevenci neplodnosti již před zahájením a v průběhu cytostatické léčby. Přehled jednotlivých metod ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících cytotoxickou léčbu, jejich výhody a nevýhody, podává tab. 1.

Kryokonzervace gamet

Rutině používanou metodou, která vede k záchraně fertility u žen, je kryokonzervace oocytů před zahájením cytostatické léčby. Jedná se o metodu intenzivně rozvíjenou zejména v posledním desetiletí, nicméně jejímu rutinní rozšíření do běžné praxe zatím brání poměrně malá úspěšnost při dosažení fertility z kryokonzervovaných oocytů [8]. Přestože významných úspěchů v této oblasti již bylo dosa-

ženo, je třeba dořešit ještě mnoho otázek při standardizaci procesu kryokonzervace i rozmrazování lidských oocytů [9]. Intenzivně jsou zkoumány technické postupy při kryokonzervaci a rozmrazování, které by byly schopny předejít poškození obalu oocytu (zona pelucida hardening) a sítě mikrotubulů (meiotic spindle), která je nezbytná k dokončení meiózy maturovaného oocytu [10]. Významným limitujícím faktorem tohoto postupu je nutnost podstoupit hormonální ovariální stimulaci s následným odběrem oocytů, což posouvá možnost zahájení cytostatické terapie o 3–4 týdny. Hormonální stimulace může navíc zhoršit průběh estrogen-dependentního onemocnění, jakým je kupříkladu systémový lupus erythematosus. Současnou podmínkou pro použití této metody je i relativně dobrý zdravotní stav pacientky.

Kryokonzervace embryí

Další klinicky běžně používaný postup, který může vést k zajištění fertility ženy před zahájením cytostatické léčby, je provedení IVF-cyklu s oplozením a následnou kryokonzervací embryí po jejich kultivaci v podmínkách in vitro [11]. Tato metoda je technicky již dobře zvládnuta a zavedena do běžné praxe, nicméně její využití je limitováno několika závažnými podmínkami. Významně limitujícím požadavkem, podobně jako při předchozím postupu ochrany reprodukčních funkcí ženy, je požadavek relativně dobrého zdravotního stavu pacientky, který dovolí posunutí zahájení cytostatické léčby o asi 3–4 týdny s nutností podstoupit hormonální ovariální stimulaci s následným odběrem oocytů. I v tomto případě je nutné počítat s možným negativním vlivem hormonální stimulace na aktivitu systémového onemocnění pojištění. Dalším převážně legislativním a etickým omezením je existence partnera pacientky a jeho písemný souhlas s provedením IVF-cyklu a poskytnutí jeho spermií k oplození získaných oocytů. Proto tento postup není

vhodný u velmi mladých pacientek, které nemají stálého partnera.

Kryokonzervace ovariální tkáně

Metodou volby u pacientek, které nesplňují některé z výše uvedených podmínek, je možnost kryokonzervace ovariální tkáně před zahájením cytostatické léčby. Výhodou této metody je její rychlá proveditelnost bez nutnosti odložit zahájení léčby systémového onemocnění pojiva. Další nespornou výhodou této metody je rovněž fakt, že pacientka nemusí podstupovat hormonální ovariální stimulaci, která může negativně ovlivnit průběh systémového onemocnění. Pro pacientky s nově diagnostikovaným systémovým onemocněním pojiva se závažným orgánovým postižením, které vyžadují včasné zahájení léčby cytotoxickými léky, je kryokonzervace ovariální tkáně vhodnou alternativou prevence ovariálního poškození či selhání [12,13]. Cílem procesu je nabídnout pacientce po úspěšném ukončení léčby základního onemocnění, bez známek jeho aktivity či recidivy, možnost reimplantace takto zachované ovariální tkáně do malé pánve či na jiné místo lidského těla (heterotopická autotransplantace).

Technika odběru a kryokonzervace ovariální tkáně je již poměrně dobře propracovaná. Základní limitací metody je ovšem proces *in vitro* maturace nezralých oocytů v takto získané ovariální tkáni [14]. Pokroky v kryobiologii ovariální tkáně, vyzkoušené na laboratorních zvířatech, odstartovaly mnoho projektů bank ovariální tkáně, které mohou urychlit rozvoj této prozatím experimentální metody v běžné klinické praxi [15]. V pilotní studii Hovatt a Newtona, publikované v roce 1996, autoři vyzkoušeli kryokonzervační postupy s využitím různých kryoprotektantů a potvrdili, že ovariální tkáň je odolná k procesu hlubokého zamražení [16–18]. Později Newton a zejména Gook prokázali, že právě primordiální folikuly jsou nejodolnější vůči celému procesu zamražení a rozmražení a následně získali maturované

oocyty, které pocházely ze zamražené a následně rozmražené ovariální tkáně implantované imunodeficitním myším [19,20].

Doposud byla ovariální tkáň úspěšně zamražena a následně transplantována kromě myši také u ovce, králíka a kosmana [21–23]. Tyto studie ukázaly jasnou korelaci mezi poškozením tkáně a délkou trvání ischemie při odběru a zpracování ovariální tkáně. Pokles počtu primordiálních folikulů v důsledku hypoxie je odhadován na 50–65 %. Podle některých studií jsou buňky ovariální tkáně schopny tolerovat ischemii minimálně po dobu 3 hod. V současnosti jsou zkoumány možnosti využití látek, zejména antioxidantů (kyselina askorbová) či růstových faktorů (VEGF), které by dokázaly snížit procento buněk poškozených kryokonzervací [24].

Tyto úspěchy vedly k vypracování kryokonzervačních protokolů v humánní medicíně. V současné době jsou využívány 2 základní typy kryokonzervačních protokolů podle typu použitého kryoprotektantu. K hodnocení úspěšnosti kryokonzervačních postupů jsou využívány metody histologického vyšetření tkáně, zejména procento přežívání primordiálních folikulů, a procento fibrotizace ve štěpu po transplantaci.

V roce 2004 byl popsán první případ, kdy došlo po ortotopické autotransplantaci zamraženého vzorku ovariální tkáně k vývoji euploidního embrya a v zápětí k porodu dítěte u pacientky léčené pro lymfom [25]. U pacientky byla však pozorována sporadická ovulace, a proto je možné, že gravidita vznikla z oocytu ovaria ponechaného *in situ*. V roce 2005 byla publikována práce izraelských autorů, ve které bylo dosaženo gravidity a porodu zdravého dítěte po ortotopické autotransplantaci ovariální tkáně a následném IVF-cyklu u 28leté ženy 3 roky po ukončení chemoterapie pro nonhodgkinský lymfom [26].

Odběr ovariální tkáně se provádí laparoskopicky v krátkodobé celkové anestezii. Více než 90 % buněk ova-

riálního kortexu tvoří primordiální folikuly obklopené vrstvou granulózových buněk a vazivové tkáně. Většina folikulů je umístěna v oblasti do 1 mm pod kortikálním epitelem ovaria. Z důvodu zachování růstového potenciálu folikulů je nutné odebrat několik plátků ovariálního kortexu v tloušťce 1–3 mm a zachovat tak integritu těchto doprovodných struktur ovariální tkáně. Nejoptimálnější z hlediska dalšího zpracování se jeví odběr 2–3 plátků tkáně z obou ovarii, které jsou před kryokonzervací zpracovány na menší kousky o velikosti 10 × 3 × 2 mm.

Techniky autotransplantace ovariální tkáně u člověka lze rozdělit na ortotopické a heterotopické. Ortotopická technika znamená uložení štěpu do malé pánve do peritoneální duplikatury, ovarické fosy či přímo do hormonálně inaktivního ovaria, případně mnohočetné injekce suspenze malých kousků ovariální tkáně do ovariálního kortexu [26,27]. Některými autory bylo prokázáno, že peritoneální tkáň se lépe hodí k transplantaci než jiné oblasti (sval, podkoží), protože zde došlo k menší ztrátě počtu primordiálních folikulů [28]. Nevýhodou ortotopické transplantace je větší invazivnost převážně laparoskopického, někdy i laparotomického výkonu. Méně invazivní metodou bez nutnosti celkové anestezie je heterotopická autotransplantace ovariální tkáně do podkoží předloktí nebo podbřišku. V humánní medicíně bylo dosaženo vývoje diploidního embrya v autotransplantátu, zatím bez dosažení gravidity, po embryotransferu [25].

Klinickým důkazem funkce autotransplantátu ovariální tkáně je obnovení menstruačního cyklu u pacientky s iatrogenní amenoreou po cytostatické terapii. Podle doposud publikovaných prací došlo k obnovení menstruace v intervalu 6–12 měsíců po transplantaci. Nejjednodušší možností sledování funkce ovariálního štěpu je monitorování poklesu hladin ovariálních steroidů a gonadotropinů, případně sledování nových markerů a ukazatelů

ovariální funkce a rezervy – inhibinů (INH A, INH B) a antimülleriánského hormonu (AMH). Jejich hladiny začnou v krvi stoupat o několik týdnů dříve, než je v krvi detekován signifikantní pokles hladiny gonadotropinů.

Odborná debata o výhodách a potencionálních rizicích této metody vedla k vytvoření expertní pracovní skupiny a doporučeného postupu Americké společnosti pro reprodukční medicínu (American Society for Reproductive Medicine – ASRM) publikovaného v roce 2004 [29]. V těchto doporučeních je mimo jiné konstatováno, že se doposud jedná o experimentální metodu, má být vyžadován písemný souhlas pacienta a souhlas etické komise a je nezbytná mezioborová spolupráce. V Evropě vstoupila v dubnu roku 2004 v platnost směrnice Evropské unie č. 2004/23/EC o darování, zprostředkování, testování, zpracování, ochraně, skladování a šíření lidských tkání a buněk. Tato směrnice stanovuje standardy a podmínky pro pracoviště, která se touto problematikou zabývají.

Farmakologická ochrana GnRH analogy

Všechny výše popsané metody vycházejí z rozvinutých metod AR a využívají zkušeností s kryokonzervací lidských gamet, embryí, či ovariální tkáně. Základní otázkou však zůstává možnost prevence ovariálního poškození agresivní cytotoxickou léčbou.

Opakovaně bylo pozorováno, že dívky léčené pro nádorové onemocnění v prepubertálním věku nevykazují ve srovnání s dospělými ženami, jejichž zárodečné buňky podléhají cyklické hormonální stimulaci a proliferaci, tak častá poškození ovariálních funkcí [30].

Základní vlastností oocytů je jejich rozsáhlý germinální potenciál a dělicí schopnosti, které je předurčují k tomu, aby byly jednou z prvních obětí agresivní cytotoxické terapie. Na druhé straně proces folikulogeneze a maturatione oocytu je vysoce hormonálně zá-

vislý a je ovlivňován řadou endokrinních i parakrinních signálů. Mezi hormony, které hrají významnou roli v těchto procesech, patří FSH a LH, produkované v adenohypofýze pod regulační kontrolou gonadoliberinu (GnRH). Působením výše uvedených hormonů je možné oocyty zastavit ve vývoji na úrovni primordiálních folikulů, jako je tomu v prepubertálním období vývoje ženy. Takto inhibované oocyty pak vykazují výrazně nižší senzitivitu na cytotoxickou léčbu, jak bylo již potvrzeno v pilotních studiích izraelských autorů Blumenfelda et al [31]. Hormonální suprese ovarií tedy vychází z hypotézy, že ovarium je v klidovém stadiu méně citlivé na cytotoxické léky. Tato hypotéza byla již ověřena experimentálně a také několika pilotními studiemi na lidských ovariích [32]. K útlumu činnosti vaječníků dochází až po několika dnech. Přesný mechanismus této ochrany však není znám, protože primordiální folikuly, které tvoří rozhodující část folikulární rezervy, nejsou pod vlivem gonadotropinů [31]. Jedním z předpokládaných mechanismů protektivního působení GnRH analogů je jejich inhibiční vliv na produkci FSH. Alkylační cytostatika vedou k nárůstu destrukce a apoptózy dozrávajících a diferencujících se folikulů, což je spojeno se snížením produkce pohlavních hormonů a některých růstových faktorů ze superrodiny TGF- β peptidů, např. AMH, inhibinu, aktivinu, produkovaných dozrávajícími folikuly. Snížená plazmatická koncentrace těchto látek pak vede zpětnovazebně k nárůstu produkce FSH, jehož vyšší hladina stimuluje klidové folikuly k diferenciaci a dozrávání. Ty se následně stávají náchylnějšími k toxickému působení alkylačních cytostatik. Další z možných mechanismů protektivního účinku GnRH analogů může být jejich inhibiční vliv na utero-ovariální perfuzi a snížení kumulativní expozice ovarií cytotoxickým lékům. Další z mechanismů účinku těchto léků připouští existenci GnRH receptorů v lidských pohlavních orgá-

nech, jejichž stimulace může vést k inhibici apoptózy dozrávajících folikulů.

Léky, schopné zastavit cyklickou sekreci FSH a LH, jsou analoga GnRH v dlouhodobém kontinuálním podání. Běžně se používají v protokolech ovariální stimulace při IVF [33]. Důkaz o protektivním účinku současného podávání analogů GnRH při cytotoxické terapii z důvodu maligních, ale i systémových autoimunitních chorob, byl již opakovaně podán a v současné době probíhá řada prospektivních randomizovaných studií, které si kladou za cíl potvrdit efektivitu tohoto postupu [34]. Výsledky ukazují efektivitu této metody zejména u mladších pacientek. Určitou nevýhodou použití GnRH analogů je přechodné zvýšení sekrece gonadotropinů po dobu 7 až 10 dnů od podání, tzv. flare-up fenomén, při němž je naopak senzitivita ovariální tkáně na chemoterapii zvýšena. Metodou volby je v tomto případě použití GnRH antagonistů, jejichž aplikace v kombinaci s GnRH analogem, zajistí ovariální supresi do 4–5 dnů [35]. V praxi tedy tento postup zahrnuje aplikaci GnRH analogu (Diphereline 3 mg) v podobě intramuskulární injekce a následnou aplikaci GnRH antagonisty (Cetrotide 3 mg) opět v podobě intramuskulární injekce 6 hod po aplikaci GnRH analogu. Tento postup zajistí ovariální inhibici a možnost zahájení agresivní cytotoxické léčby po 4–5 dnech. K udržení ovariální suprese je nezbytné opakované podání GnRH analogu (Diphereline 3 mg) po dobu terapie základního onemocnění v 1měsíčních intervalech. Po ukončení této léčby dochází k obnovení ovariálních funkcí a menstruace obvykle během 5 měsíců.

Na našem revmatologickém pracovišti je tento postup realizován ve spolupráci s Centrem asistované reprodukce CAR 01 Gynekologicko-porodnické kliniky LF MU a FN Brno, ve kterém probíhá výzkumný projekt ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících chemoterapii pro hematologickou malignitu (OvarOnko),

který si klade za primární cíl ověření protektivního podávání GnRH analogu za účelem ochrany ovariální tkáně v průběhu tří různých režimů chemoterapie u pacientek s Hodgkinovým lymfomem ve fertilním věku [35–38].

Komentář

Terapie závažných systémových chorob pojiva a systémových vaskulitid vyžaduje často použití cytotoxických léků. K nežádoucím účinkům těchto léků patří i nevratné poškození zárodečné tkáně gonád způsobující trvalou neplodnost. Na rozdíl od jiných rychle proliferujících tkání organismu bývá poškození ovarí většinou nevratné, a to v důsledku předem determinovaného počtu ovariálních folikulů při narození. Destrukce folikulů vede k primární ovariální nedostatečnosti a k rozvoji následné neplodnosti s příznaky klimakterického syndromu. Zachování funkce ovarí závisí především na gonadotoxickém účinku použité cytotoxické léčby a ovariální rezervě primordiálních folikulů ve vaječnících, která klesá s věkem.

Moderní metody AR mohou dnes nabídnout pacientkám se závažnými systémovými chorobami pojiva šanci na vlastní rodinu. Metody kryokonzervace oocytů a embryí před zahájením cytotoxické léčby základního onemocnění jsou však zatíženy řadou problémů. Oocyt je vzhledem ke své stavbě při kryokonzervaci velmi zranitelný. Po rozmrazení dochází k oplození a dosažení těhotenství jen výjimečně [39]. Proces zmrazení a rozmrazení velmi dobře snáší jen kvalitní embrya. Neopomenutelnou limitací těchto postupů je nutnost podstoupit hormonální ovariální stimulaci s následným odběrem oocytů, což posouvá možnost zahájení cytostatické léčby o 3–4 týdny a může negativně ovlivnit průběh systémového autoimunitního onemocnění. Limitující podmínkou je tedy i relativně dobrý zdravotní stav pacientky.

V posledních letech je věnována maximální pozornost výzkumu mož-

nosti kryokonzervace ovariální tkáně. Tato metoda odstraňuje některé limitující faktory metod kryokonzervace oocytů a embryí, zejména nutnost oddálení zahájení cytotoxické terapie. Vlastní protokol kryokonzervace je již dobře propracován, ale využití zamrazeného materiálu a proces in vitro maturace je stále ve stadiu experimentu. Vyřešení problémů in vitro maturace oocytů by znamenalo zásadní přínos pro zachování plodnosti u žen ve fertilním věku podstupujících léčbu cytotoxickými léky.

Zásadní otázkou zůstává možnost prevence trvalého ovariálního poškození agresivní cytostatickou léčbou. Slibnou metodou se ukazuje být hormonální ovlivnění aktivity ovarí s využitím GnRH analogů. Jejich působením je možné oocyty zastavit ve vývoji na úrovni primordiálních folikulů. Takto inhibované oocyty pak vykazují výrazně nižší senzitivitu na cytotoxickou léčbu.

Povinností revmatologů, ale i jiných odborníků setkávajících se s touto problematikou, je zajistit léčeným pacientkám se systémovými chorobami pojiva dostatečnou kvalitu života, z daného pohledu zejména nabídnout šanci na založení vlastní rodiny.

Podpořeno grantovým projektem IGA MZ ČR – NR/8469-3.

Literatura

1. Lukác J, Rovenský J, Lukácová O et al. Systemic lupus erythematoses. *Vnitř Lék* 2006; 52: 702–711.
2. Laml T, Schulz-Lobmeyr I, Obruca A et al. Premature ovarian failure: etiology and prospects. *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 292–302.
3. Ataya K, Rao LV, Laurence E et al. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide induced ovarian follicular depletion in Rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1995; 52: 365–372.
4. Blumenfeld Z. How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embryos, oocytes, or ovaries. *Oncologist* 2007; 12: 1044–1054.

5. Blumenfeld Z, Eckman A. Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women by GnRH-a. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005; 34: 40–43.
6. Blumenfeld Z, Shapiro D, Shteinberg M et al. Preservation of fertility and ovarian function and minimizing gonadotoxicity in young women with systemic lupus erythematosus treated by chemotherapy. *Lupus* 2000; 9: 401–405.
7. Crha I, Ventruba P, Žáková J et al. Kryokonzervace spermatu před gonadotoxickou léčbou – 11 let zkušeností. *Čes Gynék* 2007; 72: 320–326.
8. Boldt J et al. Human oocyte cryopreservation as an adjunct to IVF-embryo transfer cycles. *Hum reprod* 2003; 18: 1250–1255.
9. Quintans CJ, Donaldson MJ, Bartolino MV et al. Birth of two babies oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium. *Hum Reprod* 2002; 17: 3149–3152.
10. Marrs RP, Greene J, Stone BA. Potential factors affecting embryo survival and clinical outcome with cryopreserved pronuclear human embryos. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 1766–1771.
11. D'Angelo A, Amso NN. Embryo freezing for preventing ovarian hyperstimulation syndrome: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17: 2787–2794.
12. Meirou D, Fasoulitis SJ, Nugent D et al. A laparoscopic technique for obtaining ovarian cortical biopsy specimens for fertility conservation in patients with cancer. *Fertil Steril* 1999; 71: 948–951.
13. Donnez J, Bassil S. Indications for cryopreservation of ovarian tissue. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 248–259.
14. Oktay K. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: preliminary findings and implications for cancer patients. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 526–534.
15. Rutherford AJ, Gosden RG. Ovarian tissue cryopreservation: a practical option? *Acta Paediatr* 1999; 88: 13–18.
16. Hovatta O. Methods for cryopreservation of human ovarian tissue. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 729–734.
17. Newton H, Aubard Y, Rutherford A et al. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. *Hum Reprod* 1996; 11: 1487–1491.
18. Newton H, Fisher J, Arnold JR et al. Permeation of human ovarian tissue with cryoprotective agents in preparation for

cryopreservation. Hum Reprod 1998; 13: 376–380.

19. Gook DA, Edgar DH, Borg J et al. Oocyte maturation, follicle rupture and luteinization in human cryopreserved ovarian tissue following xenografting. Hum Reprod 2003; 18: 1772–1781.

20. Candy CJ, Wood MJ, Whittingham DG. Restoration of a normal reproductive lifespan after grafting of cryopreserved mouse ovaries. Hum Reprod 2000; 15: 1300–1304.

21. Almodin CG, Minguetti-Camara VC, Meister H et al. Recovery of fertility after grafting of cryopreserved germinative tissue in female rabbits following radiotherapy. Hum Reprod 2004; 19: 1287–1293.

22. Candy CJ, Wood MJ, Whittingham DG. Follicular development in cryopreserved marmoset ovarian tissue after transplantation. Hum Reprod 1995; 10: 2334–2338.

23. Kim SS, Yang HW, Kang HG et al. Quantitative assessment of ischemic tissue damage in ovarian cortical tissue with or without antioxidant (ascorbic acid) treatment. Fertil Steril 2004; 82: 679–685.

24. Oktay K, Buyuk E, Veeck L et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet 2004; 363: 837–840.

25. Oktay K, Tilly J. Livebirth after cryopreserved ovarian tissue autotransplantation. Lancet 2004; 364: 2091–2092.

26. Bedaiwy MA, Falcone T. Ovarian tissue banking for cancer patients: reduction of post-transplantation ischaemic in-

jury: intact ovary freezing and transplantation. Hum Reprod 2004; 19: 1242–1244.

27. Blumenfeld Z. Preservation of fertility and ovarian function and minimalization of chemotherapy associated gonadotoxicity and premature ovarian failure: the role of inhibin-A and -B as markers. Mol Cell Endocrinol 2002; 187: 93–105.

28. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Ovarian tissue and oocyte cryopreservation. Fertil Steril 2004; 82: 993–998.

29. Martinez-Madrid B, Dolmans MM, Van Langendockt A et al. Freeze-thawing intact human ovary with its vascular pedicle with a passive cooling device. Fertil Steril 2004; 82: 1390–1394.

30. Schilsky R, Sherins R, Hubbard S et al. Long-term follow-up of ovarian function in women treated with MOPP chemotherapy for Hodgkin's disease. Am J Med 1981; 71: 552–556.

31. Blumenfeld Z. Preservation of fertility and ovarian function and minimalization of chemotherapy associated gonadotoxicity and premature ovarian failure: the role of inhibin-A and -B as markers. Mol Cell Endocrinol 2002; 187: 93–105.

32. Blumendfeld Z. Fertility after treatment for Hodgkin's disease. Ann Oncol 2002; 13 (Suppl 1): 138–147.

33. Pritchard KI GnRH analogues and ovarian ablation: their integration in the adjuvant strategy. Recent Results Cancer Res 1998; 152: 285–297.

34. Manger K, Wildt L, Kalden JR et al. Prevention of gonadal toxicity and pre-

servation of gonadal function and fertility in young women with systemic lupus erythematosus treated by cyclophosphamide: the PREGO-Study. Autoimmun Rev 2006; 5: 269–272.

35. Mardešić T, Šnajderová M et al. Protocol combining GnRH agonists and GnRH antagonists for rapid suppression and prevention of gonadal damage during cytotoxic therapy. Eur J Gynaecol Oncol 2004; 25: 90–92.

36. Huser M, Crha I, Hudecek R et al. Ovarian tissue cryopreservation – new opportunity to preserve fertility in female cancer patients. Eur J Gynaecol Oncol 2007; 28: 249–255.

37. Huser M, Višňová H, Ventruba P et al. Možnosti ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících chemoterapii pro hematologickou malignitu. Prakt Gyn 2006; 9: 6–8.

38. Huser M, Juránková E, Crha I et al. Kryokonzervace ovariální tkáně – šance na záchranu fertility žen s nádorovým onemocněním. Čes Gynek 2007; 72: 68–73.

39. Paynter SJ. Current status of the cryopreservation of human unfertilized oocytes. Human Reprod Update 2000; 6: 449–456.

MUDr. Petr Němec, Ph.D.

www.fnusa.cz

e-mail: petr.nemec@fnusa.cz

Doručeno do redakce: 5. 12. 2007

Přijato po recenzi: 28. 12. 2007

www.praktickagynekologie.cz