

Η κρυοσυντήρηση γενετικού υλικού

Cryopreservation of genetic material

Θεοδώρα Οικονόμου
Προπτυχιακή φοιτήτρια
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών/
Κατεύθυνση Ιατρικών Εργαστηρίων
dwraoikonomou@hotmail.com

Πέτρος Καρκαλούσος
Αναπληρωτής καθηγητής
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών/
Κατεύθυνση Ιατρικών Εργαστηρίων
petef@uniwa.gr

Εγκρίθηκε τον Μάρτιο του 2023

Περίληψη – Η κρυοσυντήρηση γενετικού υλικού είναι μια μέθοδος ευρέως διαδεδομένη που δίνει λύσεις στη διατήρηση κυττάρων, ιστών ή ακόμη και ακατέργαστου βιολογικού υλικού σε πολύ χαμηλή θερμοκρασία, με σκοπό τη χρήση τους σε μεταγενέστερη χρονική στιγμή. Η πρόοδος και η εξέλιξη της σύγχρονης τεχνολογίας στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής μας έχουν δώσει την επιλογή της κρυοσυντήρησης, η οποία είναι πλέον μια επέμβαση ρουτίνας, που βασίζεται στην κατάψυξη του δείγματος. Η κρυοσυντήρηση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε σε ωάρια, είτε σε σπερματοζωάρια, είτε σε έμβρυα, αναλόγως την περίπτωση. Ανεξαρτήτως, όμως, επιλογής, η διαδικασία της κρυοσυντήρησης αναφέρεται ως εντελώς ασφαλής και αποτελεσματική, προσφέροντας υψηλά ποσοστά κύησης.

Λέξεις κλειδιά: Κρυοσυντήρηση, ωάρια, σπερματοζωάρια, έμβρυα, εξωσωματική γονιμοποίηση

Summary – Cryopreservation of genetic material is a widespread method that provides solutions to preserve cells, tissues or even raw biological material at a very low temperature, with the aim of using them at a later time. The progress and evolution of modern technology in the field of assisted reproduction has given us the option of cryopreservation, which is now a routine operation, based on freezing the sample. Cryopreservation can be carried out either in eggs, sperm, or embryos, depending on the case. Regardless of choice, however, the cryopreservation process is reported to be completely safe and effective, offering high rates of pregnancy.

Keywords: Cryopreservation, eggs, sperm, embryos, In Vitro Fertilization

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μέσα στα τελευταία 40 χρόνια έχουν γεννηθεί σε όλον τον πλανήτη πάνω από 400.000 παιδιά με διάφορες μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, ενώ στην Ελλάδα υπολογίζεται ότι γεννιούνται με τέτοιες μεθόδους πάνω από 3.000 παιδιά ετησίως (1). Πολλά από αυτά γεννιούνται πλέον με τη χρήση γενετικού υλικού δωρητών, είτε ανδρών, είτε γυναικών, είτε και των δύο ταυτόχρονα. Οι τελευταίες εξελίξεις στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, καθώς και η ανάπτυξη ολοένα και πιο προηγμένων τεχνικών,

επέτρεψαν την κρυοσυντήρηση και αποθήκευση γενετικού υλικού τόσο από γυναίκες, όσο και από άντρες. Σπέρμα, ωάρια ή και έμβρυα φυλάσσονται σε φιάλες με υγρό άζωτο με στόχο τη μετέπειτα χρήση τους από τους βιολογικούς ή άλλους γονείς.

II. ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΩΑΡΙΩΝ

Καθώς μια γυναίκα μεγαλώνει, η ποιότητα των ωαρίων της τείνει να μειώνεται. Με την αύξηση της ηλικίας της γυναίκας τα ωάρια τείνουν να περιέχουν περισσότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες και επιπλέον οι γυναίκες χάνουν ολοκληρωτικά την αναπαραγωγική τους δυνατότητα μετά την εμμηνόπαυση. Αυτό σημαίνει ότι οι ωοθήκες της παύουν να απελευθερώνουν ωάρια. Στις γυναίκες τα περισσότερα προβλήματα υπογονιμότητας οφείλονται στην υποβάθμιση των γεννητικών κυττάρων που σχετίζεται με τη γήρανση (2). Η κατάψυξη ωαρίων ή η κρυοσυντήρηση ωαρίων είναι μια διαδικασία κατά την οποία τα ωάρια μιας γυναίκας (ωοκύτταρα) εξάγονται, καταψύχονται και αποθηκεύονται ως μέθοδος διατήρησης του αναπαραγωγικού δυναμικού σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας.

Σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής, οι πιθανότητες ένα μόνο κατεψυγμένο ωάριο να οδηγήσει σε ζωντανό έμβρυο είναι μεταξύ 2% και 12%. Φυσικά η κατάψυξη περισσότερων ωαρίων αυξάνει αυτές τις πιθανότητες(3). Σε ηλικία κάτω των 35 ετών, υπάρχει 70% πιθανότητα να γεννηθεί ζωντανό, εάν κρυοσυντηρηθούν εννέα ή περισσότερα ώριμα ωάρια. Στις αρχές της δεκαετίας των 40, μπορεί να χρειαστεί να καταψυχθούν σημαντικά περισσότερα ωάρια - 28 ή περισσότερα - για την ίδια πιθανότητα 70% να γεννηθεί ζωντανό (4).

Η πρώτη ανθρώπινη γέννηση από κατεψυγμένο ωάριο αναφέρθηκε το 1986. Η κρυοσυντήρηση ωαρίων έχει προχωρήσει πολύ τα τελευταία χρόνια, με βελτιωμένη συνολική επιτυχία των ωαρίων που επιβίωσαν από τη διαδικασία κατάψυξης. Οι τεχνικές που οδηγούν σε ενισχυμένη επιβίωση γαμετών, πιθανή γονιμοποίηση και ποσοστά ζωντανών γεννήσεων επιτρέπουν στις γυναίκες πολύ μεγαλύτερο βαθμό αυτονομίας από ό,τι ήταν δυνατό ακόμη και τα τελευταία 5 χρόνια.

Η πρώτη τεχνική κρυοσυντήρησης ωαρίων ήταν η μέθοδος της αργής κατάψυξης (slow freezing) στα τέλη του

Oikonomou T, Karkaloulos P. Cryopreservation of genetic material. J Med Sci, 2023; Jul (1):1-4

1980 (5), η οποία παρ' όλο που οδήγησε στην πρώτη κύηση παγκοσμίως από κατεψυγμένα ωάρια (6), εγκαταλήθηκε γρήγορα, καθώς παρουσίαζε αρκετές δυσκολίες (δαπανηρή σε χρόνο και κόστος και φτωχά αποτελέσματα). Από το 1990 άρχισε να εφαρμόζεται η πρωτοποριακή τότε μέθοδος της υαλοποίησης (vitrification) (6). Η αρχή της μεθόδου είναι η εξαιρετικά γρήγορη κατάψυξη ενός μικρού όγκου δείγματος με άμεση επαφή με υγρό άζωτο χωρίς ρύπους, το οποίο θα πρέπει να αποτρέψει το σχηματισμό πάγου και να μειώσει την οσμωτική βλάβη. Οι μέθοδοι υαλοποίησης ενσωματώνουν κρυοπροστατευτικά σε επαρκώς υψηλές συγκεντρώσεις, έτσι ώστε το σύστημα να σχηματίζει ένα άμορφο γυαλί αποφεύγοντας έτσι τις καταστροφικές συνέπειες που προκαλούνται από τη συμβατική αργή ψύξη. Η υαλοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί για ολόκληρο το σπέρμα ή για επιλεγμένα σπερματοζώαρια χρησιμοποιώντας τόσο διαπερατά όσο και αδιαπεράστα επεκτατικά. Η υαλοποίηση, σε συνδυασμό με τις λεγόμενες «ανοιχτές» συσκευές, απαιτεί άμεση έκθεση του δείγματος σε υγρό άζωτο και αυτή η έκθεση εγκυμονεί πρόσθετους κινδύνους μόλυνσης. Συνιστάται πάντα η χρήση αποστειρωμένου υγρού αζώτου. Η διαδικασία μπορεί επίσης να είναι επικίνδυνη για τον χειριστή, ο οποίος θα πρέπει πάντα να χρησιμοποιεί κατάλληλο προστατευτικό εξοπλισμό (7).

Η προετοιμασία της ανάκτησης ωαρίων για την κρυοσυντήρηση τους ξεκινάει χρησιμοποιώντας ενέσιμα ορμονικά φάρμακα. Αρχικά ο γυναικολόγος αξιολογεί το απόθεμα των ωαρίων για να εκτιμήσει την πιθανή απόδοση των ωαρίων πριν από τον κύκλο διέγερσης των ωοθηκών. Η αξιολόγηση περιλαμβάνει εξετάσεις αίματος και υπερηχογράφημα πυέλου. Μεταξύ άλλων στις εξετάσεις αίματος προσδιορίζεται και αξιολογείται ο βιοχημικός δείκτης του αποθέματος της ωοθήκης, αντιμυλλεριανή ορμόνη ή AMH (Anti-Mullerian Hormone). Η AMH είναι μία ορμόνη που παράγεται από ανώριμα ωοθυλάκια στο εξωτερικό στρώμα των ωοθηκών. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των ωοθυλακίων, τόσο περισσότερη AMH ανιχνεύεται. Τα επίπεδα της βοηθούν στον προσδιορισμό της απαραίτητης δόσης των φαρμάκων για την διέγερση των ωοθηκών.

Μετά τη διέγερση, τα ωοκύτταρα και το περιβάλλον υγρό στα ωοθυλάκια των ωοθηκών αναρροφώνται κολπικά, καθώς η γυναίκα βρίσκεται υπό καταστολή. Η ωριμότητα των ωαρίων αξιολογείται στο μικροσκόπιο και αυτά που είναι ώριμα κρυοσυντηρούνται. Συνήθως, τα ωάρια που συλλέγονται κατά την ωοληψία δεν είναι όλα γονιμοποιήσιμα. Για να μπορούν να γονιμοποιηθούν, τα ωάρια θα πρέπει να είναι ώριμα, δηλαδή να είναι στο σωστό στάδιο ανάπτυξης χρωμοσωμικά και κυτταροπλασματικά, καθώς και να είναι καλής ποιότητας. Ο εμβρυολόγος εντοπίζει τα ωάρια, τα απομονώνει από το ωοθυλακικό υγρό και τα τοποθετεί σε ειδικά μικρά δοχεία, που ονομάζονται τρυβλία και περιέχουν ειδικό καλλιεργητικό θρεπτικό μέσον. Όλα τα χρησιμοποιούμενα υλικά υπακούουν σε αυστηρότατες ποιοτικές προδιαγραφές, προκειμένου να διασφαλίζεται η απουσία τοξικότητας για τους γαμέτες και τα έμβρυα. Τα τρυβλία εν συνεχεία τοποθετούνται σε επωαστικό κλίβανο

υπό τις κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας (σκοτάδι, θερμοκρασία 37°C, ατμόσφαιρα 5% CO₂, υγρασία 100%). Κατά κανόνα, σε κάθε τρυβλίο τοποθετούνται 1-4 ωάρια, ανάλογα με την τεχνική που εφαρμόζεται (υπάρχουν ορισμένες εργαστηριακές παραλλαγές της τεχνικής, οι οποίες όμως δεν επηρεάζουν τη συνέχεια των γεγονότων και γι' αυτό δεν περιγράφονται με λεπτομέρεια). Ανάλογα με το πάχος, το μέγεθος και την πυκνότητα των κοκκιωδών στοιβάδων, οι εμβρυολόγοι είναι δυνατόν να εκτιμήσουν κατά προσέγγιση την ωριμότητα των ωαρίων. Επιπλέον, εκτός από την ωριμότητα των περιβλημάτων του, το ωάριο πρέπει να έχει ωριμάσει και ως προς το περιεχόμενο του πυρήνα του.

Επί του παρόντος, η υαλοποίηση είναι η μέθοδος επιλογής για την κρυοσυντήρηση των ωαρίων, και αυτό επιτυγχάνεται με εξαιρετικά γρήγορη ψύξη σε υγρό άζωτο στους -196°C. Τα ωάρια απομακρύνονται από το σώμα με διακολπική ανάκτηση ωαρίων. Τα αυγά καταψύχονται αμέσως. Όταν η γυναίκα είναι έτοιμη να χρησιμοποιήσει τα κατεψυγμένα ωάρια για να επιτύχει εγκυμοσύνη, τα ωάρια που επέζησαν από τη διαδικασία κατάψυξης γονιμοποιούνται με ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI), όπου ένα μόνο σπερματοζώαριο εγχέεται απευθείας στο ωάριο και τα γονιμοποιημένα ωάρια θα αναπτυχθούν σε καλλιέργεια έως ότου τα έμβρυα είναι έτοιμα να μεταφερθούν στη μήτρα για την επίτευξη εγκυμοσύνης, συνήθως 3-5 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση (8).

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται ονομαστικά οι περιπτώσεις όπου προτείνεται η κρυοσυντήρηση ωαρίων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι.

Γυναίκες με καρκίνο που πρόκειται να υποβληθούν σε χημειοθεραπεία ή /και ακτινοβολία πυέλου που μπορεί να επηρεάσει τη γονιμότητά τους
Χειρουργική επέμβαση που μπορεί να βλάψει τις ωοθήκες
Κίνδυνος πρόωρης εμμηνόπαυσης, λόγω οικογενειακού ιστορικού, ή χρωμοσωμικών ανωμαλιών (π.χ. σύνδρομο Turner, σύνδρομο εύθραυστου Χ χρωμοσώματος)
Νόσος των ωοθηκών με κίνδυνο απώλεια της λειτουργίας τους
Διατήρηση της γονιμότητας και καθυστέρηση τεκνοποίησης για κοινωνικούς ή προσωπικούς λόγους
Γενετικές μεταλλάξεις που οδηγούν σε προληπτική αφαίρεση των ωοθηκών (π.χ. BRCA μετάλλαξη)

III. ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ

Η κρυοσυντήρηση για διατήρηση γονιμότητας δεν είναι πλέον μόνο γένους θηλυκού. Οι άντρες μπορούν να κρυοσυντηρήσουν το σπέρμα τους εάν αυτό κριθεί απαραίτητο εξαιτίας θεραπειών που προκαλούν μόνιμη ή παροδική απώλεια της γονιμότητάς τους. Επίσης, υπάρχουν πολλοί άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία και συχνά τη γονιμότητα όπως για παράδειγμα, το κάπνισμα, η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, η έκθεση σε χημικές ουσίες και ακτινοβολία.

Η κρυοσυντήρηση σπέρματος είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική στις τεχνολογίες

Oikonomou T, Karkaloulos P. Cryopreservation of genetic material. J Med Sci, 2023; Jul (1):1-4

υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και στη διατήρηση της γονιμότητας. Μέχρι τώρα, οι ενδείξεις και οι μέθοδοι διατήρησης της γονιμότητας στους άνδρες, αλλά και στα αγόρια έχουν συνοψιστεί σε πολλές κατευθυντήριες γραμμές (9). Η ενημέρωση των ασθενών είναι υποχρεωτική και πρέπει να εφαρμόζονται οι εθνικοί κανόνες για την κρυοσυντήρηση.

Η πρώτη επιτυχής γονιμοποίηση μετά από κρυοσυντήρηση σπέρματος (σε βατράχους) το 1945, θεωρείται ότι υπήρξε η αρχή της σύγχρονης κρυοβιολογίας. Οι πρώτες τράπεζες σπέρματος για κτηνοτροφική εφαρμογή λειτούργησαν το 1949. Οι πρώτες επιτυχείς σπερματεγχειρήσεις στον άνθρωπο μετά από κρυοσυντήρηση σπέρματος αναφέρθηκαν το 1953 (συντήρηση σε ξηρό πάγο, δηλαδή στερεοποιημένο CO₂ θερμοκρασίας -70°C) και το 1964 σε υγρό άζωτο (10).

Η κρυοσυντήρηση σπέρματος περιλαμβάνει τη συλλογή ενός δείγματος σπέρματος, στη συνέχεια σταδιακή ψύξη του δείγματος παρουσία ενός κρυοπροστατευτικού παράγοντα, ακολουθούμενη από αποθήκευση του δείγματος για μελλοντική χρήση.

Για την κρυοσυντήρηση σπέρματος ή ορχικού ιστού, απαιτείται αιματολογικός έλεγχος του άνδρα για να ελεγχθεί για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και λοιμώξεις που μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα του σπέρματος. Ο έλεγχος αποσκοπεί και στη μείωση της μετάδοσης στους συντρόφους κατά τη διάρκεια της τεχνητής γονιμοποίησης. Συνιστάται, επίσης, να πραγματοποιηθεί μια ανάλυση σπέρματος, για να υπάρχουν δεδομένα για τον όγκο του σπέρματος, τον αριθμό των σπερματοζωαρίων, τη συγκέντρωση σπερματοζωαρίων, την κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων (11).

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται ονομαστικά οι περιπτώσεις όπου προτείνεται σε έναν άντρα η κρυοσυντήρηση σπερματοζωαρίων.

ΠΙΝΑΚΑΣ II.

Όταν πρόκειται να υποβληθεί σε ακτινοβολίες ή χημειοθεραπεία (διάγνωσης καρκίνου)
Πριν από εγχείρηση αφαίρεσης προστάτη ή όρχεων
Αν εξασκεί επάγγελμα υψηλού κινδύνου για το σπέρμα (επαφή με χημικά, ακτινοβολία)
Αν, μετά από έλεγχο, βρεθεί μικρός αριθμός σπερματοζωαρίων ή το σπέρμα έχει έντονα επηρεασμένες παραμέτρους
Σε περίπτωση που η χρήση φαρμάκων μπορεί να αναστείλει ή να επηρεάσει τη γονιμότητά του (πχ για αυτοάνοσο νόσημα)
Αν αντιμετωπίζει πολλαπλή σκλήρυνση (κατά πλάκας) ή κάποια νευρολογική βλάβη (εγκέφαλος, νωτιαίος μυελός, περιφερικά νεύρα) που επηρεάζουν την εκσπερμάτιση
Για μελλοντική χρήση σε πιο ευνοϊκές περιστάσεις, λόγω ενδεχόμενης απουσίας νέου σπέρματος (για σπερματέγχυση ή εξωσωματική γονιμοποίηση)

Η κρυοσυντήρηση του ιστού των όρχεων είναι μια αποτελεσματική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη

διατήρηση της γονιμότητας σε προεφηβικούς άντρες ή σε άνδρες που δεν μπορούν να παράγουν σπέρμα, ώστε να τους δοθεί η δυνατότητα να αποκτήσουν βιολογικά παιδιά.

IV. ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΕΜΒΡΥΩΝ

Κατά την προσπάθεια εξωσωματικής γονιμοποίησης, συνήθως στα νέα ζευγάρια, μπορεί να προκύψει μεγάλος αριθμός εμβρύων. Ένας μικρός αριθμός εμβρύων, εξαιρετικής ποιότητας επιλέγεται για μεταφορά, με αποτέλεσμα να παραμένουν έμβρυα για επόμενη προσπάθεια εξωσωματικής γονιμοποίησης. Αυτά τα έμβρυα μπορούν να αποθηκευτούν και να διατηρηθούν για μελλοντική εμφύτευση στη μήτρα. Η κρυοσυντήρηση γίνεται σε ειδικούς χώρους του εμβρυολογικού εργαστηρίου με την κατάλληλη υποδομή. Η κρυοσυντήρηση εμβρύων έρχεται να συμπληρώσει τις άλλες μεθόδους Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής και επιτρέπει την αύξηση του ποσοστού επιτυχίας κύησης ανά ωοληψία, αφού από μία ωοληψία είναι δυνατόν να πραγματοποιηθούν περισσότερες εμβρυομεταφορές σε διαφορετικούς χρόνους (12). Αυτό μειώνει την ορμονική επιβάρυνση του οργανισμού της γυναίκας και το συνολικό κόστος (φαρμακευτικής αγωγής, αμοιβή της Μονάδας) ανά τέκνο που γεννάται με εξωσωματική γονιμοποίηση.

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται ονομαστικά οι περιπτώσεις όπου προτείνεται η κρυοσυντήρηση εμβρύων.

ΠΙΝΑΚΑΣ III.

Διατήρηση υπεράριθμων εμβρύων που προέκυψαν από μια προσπάθεια εξωσωματικής γονιμοποίησης
Ανεπαρκής ανάπτυξη του ενδομητρίου σε έναν κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης
Αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης σοβαρής μορφής του συνδρόμου υπερδιεγέρσης των ωοθηκών
Έχουν κάποια μορφή καρκίνου και θέλουν να φυλάξουν τα υγιή ωάρια τους πριν υποβληθούν σε ακτινοβολία ή χημειοθεραπεία
Κοινωνική κρυοσυντήρηση

Τα έμβρυα μπορούν να καταψυχθούν την 1η, 2η, 3η ή 5η μέρα μετά την ωοληψία. Οι εμβρυολόγοι τα αξιολογούν με βάση τα διεθνή κριτήρια και κρίνουν ποια έμβρυα είναι βιώσιμα και μπορούν να δώσουν εγκυμοσύνη. Τα έμβρυα αυτά είναι κατάλληλα για κρυοσυντήρηση, γιατί συνολικά αυξάνει τα ποσοστά επίτευξης εγκυμοσύνης. Αν τα έμβρυα καλλιεργηθούν ως το στάδιο της βλαστοκύστης, συνήθως δεν υπάρχουν υπεράριθμες βλαστοκύστες προς κρυοσυντήρηση (μέσω της καλλιέργειας βλαστοκύστης γίνεται η επιλογή των καλύτερων εμβρύων). Τα έμβρυα μπορούν να παραμείνουν στην κατάψυξη για 5 χρόνια κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες κρυοσυντήρησης (13).

Η μεταφορά κρυοσυντηρημένων εμβρύων στη μήτρα προγραμματίζεται ώστε το «περιβάλλον» που θα υποδεχθεί το έμβryo να είναι κατάλληλο. Ο σχεδιασμός αφορά την επιλογή της ιδανικής χρονικής περιόδου εμφύτευσης. Η προετοιμασία του ενδομητρίου γίνεται είτε στην πορεία

Oikonomou T, Karkalousos P. Cryopreservation of genetic material. J Med Sci, 2023; Jul (1):1-4

ενός φυσικού κύκλου παρακολουθώντας την ωοθυλακιορρηξία, είτε σε έναν φαρμακευτικά ελεγχόμενο κύκλο. Συνήθως τα έμβρυα αποψύχονται λίγες ώρες πριν την εμβρυομεταφορά.

Εκτιμάται αφ' ενός ο αριθμός των εμβρύων που επέζησαν μετά την απόψυξη και αφ' ετέρου ο αριθμός των κυττάρων που επιβίωσαν. Προσδιορίζεται η ποιότητα των εμβρύων και αποφασίζεται ο αριθμός εμβρύων που θα μεταφερθούν. Εάν κριθεί ότι ο αριθμός των εμβρύων είναι μικρός και η ποιότητά τους πτωχή αποψύχεται και επόμενη παγιέττα, αν υπάρχει, με τη σύμφωνη πάντα γνώμη του ζευγαριού, το οποίο ενημερώνεται καταλλήλως (14).

Η κατάψυξη εμβρύων είναι ασφαλής μέθοδος και δεν προκαλεί χρωμοσωματικές ανωμαλίες, ανεξάρτητα από το χρόνο κρυοσυντήρησης. Η κρυοσυντήρηση εμβρύων δημιούργησε επανάσταση στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, αφού ουσιαστικά παγώνει τον χρόνο για το έμβρυο χωρίς να αλλοιώνει την ποιότητά του και προσφέρει την δυνατότητα να το κρυοσυντηρηθεί σε όλα τα προεμφυτευτικά στάδια, όταν οι συνθήκες για την εμφύτευση στη μήτρα είναι οι πλέον ιδανικές για μία επιτυχημένη εγκυμοσύνη.

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Συμπερασματικά, η δυνατότητα κρυοσυντήρησης γενετικού υλικού αποτελεί μία από τις σημαντικότερες εξελίξεις των τελευταίων ετών. Είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί άμεσα και σωστά η κρυοσυντήρηση, ώστε να αποθηκευτεί η καλύτερη δυνατή ποσότητα και ποιότητα γενετικού υλικού. Με αυτή τη τεχνική διασφαλίζεται η γονιμότητα γυναικών και ανδρών, προκειμένου να χρησιμοποιήσουν το γενετικό τους υλικό όταν θέλουν και, φυσικά, όταν οι συνθήκες τους το επιτρέπουν.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Wennerholm UB, Bergh C. Perinatal outcome in children born after assisted reproductive technologies. *Upsala Journal of Medical Sciences*. 2020 Mar 3;125(2):158–166.
2. ESHRE Capri Workshop Group. Fertility and ageing. *Human Reproduction Update*. 2005 Mar 24.
3. Petropanagos A, Cattapan A, Baylis F, Leader A. Social egg freezing: risk, benefits and other considerations. *Canadian Medical Association Journal*. 2015 Apr 13;187(9):666–669.
4. Goldman RH, Racowsky C, Farland LV, Munné S, Ribustello L, Fox JH. Predicting the likelihood of live birth for elective oocyte cryopreservation: a counseling tool for physicians and patients. *Human Reproduction*. 2017 Feb 6;32(4):853.
5. Shkedi-Rafid S, Hashiloni-Dolev Y. Egg freezing for age-related fertility decline: preventive medicine or a further medicalization of reproduction? Analyzing the new Israeli policy. *Fertility and Sterility*. 2011 Aug;96(2):291–294.
6. Chen C. Pregnancy After Human Oocyte Cryopreservation. *The Lancet*. 1986 Apr; 327:884–846.
7. Berkovitz A, Miller N, Silberman M, Belenky M, Itsykson P. A novel solution for freezing small numbers of spermatozoa using a sperm vitrification device. *Human Reproduction*. 2018 Oct 4;33(11):1975–1983.
8. Van Steirteghem A, Nagy Z, Liu J, Joris H, Verheyen G, Smitz J, et al. Intracytoplasmic sperm injection. *Baillière's Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 1994 Mar;8(1):85–93.
9. Hezavehei M, Sharafi M, Kouchesfahani HM, Henkel R, Agarwal A, Esmaeili V, et al. Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. *Reproductive Bio-Medicine Online [Internet]*. 2018 Sep 1;37(3):327–339.
10. Li Z, Zhu W-B, Huang C, Tang Y-L, Hu J-L, Zhou W-J, et al. Update on techniques for cryopreservation of human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology*. 2022;24(6):563.
11. Tao Y, Sanger E, Saewu A, Leveille M-C. Human sperm vitrification: the state of the art. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*. 2020 Mar 7;18(1):17.
12. Konc J, Kanyó K, Kriston R, Somoskői B, Cseh S. Cryopreservation of Embryos and Oocytes in Human Assisted Reproduction. *BioMed Research International*. 2014:1–9.
13. Mandelbaum J, Belaisch-Allart J, Junca A-M, Antoine J-M, Plachot M, Alvarez S, et al. Cryopreservation in human assisted reproduction is now routine for embryos but remains a research procedure for oocytes. *Human Reproduction*. 1998 Jun 1;13(3):161–174.
14. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Human Reproduction Update*. 2016 Nov 8;23(2):139–155.