

Российско-финская
клиника «АВА-ПЕТЕР»,
г. Санкт-Петербург
Городской клинический
онкологический диспансер,
г. Санкт-Петербург

СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

О.В. Быстрова, А.С. Калугина, Е.В. Цыбатова, Н.И. Тапильская,
Ю.В. Диникина, А.С. Лисянская, Г.М. Манихас

Методы ВРТ позволяют перед химио- и лучевой терапией получить и криоконсервировать сперму, тестикулярную ткань, ооциты, эмбрионы и ткань яичника. С применением методов ВРТ в настоящее время появилась возможность сохранить репродуктивный потенциал онкологических больных.

Несомненный прогресс в клинической онкологии подтверждается увеличением выживаемости больных злокачественными новообразованиями всех типов и нозологий. Значительную долю онкологических больных, прошедших противоопухолевое лечение, составляют лица репродуктивного возраста и дети, рассчитывающие на высокую продолжительность и качество жизни. По данным исследований, примерно 15% пациентов с впервые установленным диагнозом рака — моложе 55 лет, из них 26% моложе 20 лет. Критерии 5-летней выживаемости у онкологических больных мужского пола моложе 15 лет приближаются к 75%, а для тех же пациентов в возрасте 15-54 лет этот показатель равен 61% [27, 64].

В структуре онкологической заболеваемости женщин наиболее частыми являются злокачественные опухоли репродуктивной системы: рак молочной железы и опухоли половых органов (рак тела, шейки матки и яичников). В частности, от 3 до 17% больных раком яичников имеют возраст моложе 40 лет и около 8% случаев рака яичников I стадии обнаруживаются у женщин до 35 лет [24]. Особое внимание привлекают успехи в лечении гемобластозов у пациентов репродуктивного возраста, где пятилетняя выживаемость превышает 90% [33]. В отличие от других гемобластозов, пик заболеваемости при лимфоме Ходжкина приходится на пациентов в репродуктивном возрасте [8].

Увеличение числа молодых пациентов, излечившихся от основного заболевания, является главным стимулом для развития технологий сохранения фертильности в онкологии.

Методы сохранения фертильности развиваются стремительно. Еще недавно эту проблему считали неразрешимой. Онкологи всего мира, располагая как научным, так практическим опытом, при назначении противоопухолевой терапии детям или пациентам репродуктивного возраста, информируют их о возможности сохранения фертильности. В фокусе данных исследований находятся методы продления жизни не ценой потери отцовства или материнства, а благодаря сохранению и поддержанию фертильности.

Важно подчеркнуть, что большинство современных механизмов сохранения фертильности относятся к методам вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), которые сформировались в ходе борьбы с *уже существующим* бесплодием. Задача, стоящая перед онкологами в настоящее время, разработать тактику лечения таким образом, чтобы предотвратить возникновение бесплодия в случаях онкологической патологии у пациентов, используя методы ВРТ.

Методы ВРТ не являются одинаковыми для лиц мужского и женского пола. Рассмотрим подробно сначала возможности ВРТ для онкологических больных мужского пола (табл.1).

Способы сохранения фертильности методами ВРТ у онкологических больных мужского пола

Основу методов ВРТ составляют процессы криоконсервации (замораживания) и размораживания клеток, при которых сохраняются их жизнеспособность и функционирование. Криоконсервация гамет позволяет онкологическим больным в будущем иметь своего ребенка без применения донорского материала. Вместе со способами сохранения фертильности рассматриваются индивидуальные факторы, такие как тип злокачественного новообразования, стадия за-

Таблица 1

Способы сохранения фертильности у мужчин

Название метода	Описание метода
Криоконсервация спермы	Криоконсервация эякулята перед началом лечения с последующим хранением в криобанке
Криоконсервация сперматозоидов	Криоконсервация сперматозоидов, полученных -при ретроградной эякуляции; -после биопсии яичка
Криоконсервация ткани яичка	Криоконсервация извитых семенных канальцев
Гормональная гонадопротекция	Гормонотерапия аналогами гонадотропин-рилизинг-гормона с целью торможения тестикулярной функции

болевания, возраст пациента, тактика лечения. Для повышения вероятности восстановления репродуктивной функции целесообразно применять комбинацию нижеприведенных методов сохранения биологического материала.

Гормонотерапия (гормональная гонадопротекция)

Для сохранения клеток сперматогенного эпителия от повреждающего воздействия цитотоксической терапии в ряде случаев применяют препараты стероидных гормонов или аналогов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), тормозящих тестикулярную функцию [48]. Однако такое лечение при онкологических заболеваниях не показало обнадеживающих результатов как в эксперименте, так и в практической деятельности [12,35,49].

Поэтому подавление гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси с целью приостановления сперматогенеза и сохранения сперматогоний является только предположительным средством защиты сперматогенного эпителия от повреждающего действия химиотерапии и радиации.

Криоконсервация спермы

На сегодняшний день криоконсервация спермы является общепринятым рутинным способом сохранения фертильности у мужчин со злокачественными новообразованиями. Благодаря успехам в области ВРТ в лабораториях экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) созданы криобанки спермы, позволяющие хранить замороженный эякулят десятилетиями в жидком азоте при температуре -196°C. Система хранения в криобанках широко описана в литературе и используется во всем мире. Долгосрочное хранение не влияет на оплодотворяющую способность сперматозоидов. Так, есть достоверные данные о рождении здорового ребенка в семье, где отец в прошлом прошел противоопухолевое лечение. Беременность наступила после внутриматочной инсеминации размороженной спермой, хранившейся в течение 28 лет в криобанке [26]. Это случай самого долгосрочного хранения спермы, известный в литературе. Криоконсервация сперматозоидов в криобанке возможна для большинства случаев андрологической патологии. Так, если у пациента диагностирована криптозооспермия, методы обработки эякулята позволяют сконцентрировать сперматозоиды в малом объеме и заморозить их. Криоконсервация сперматозоидов вы-

полняется даже в случаях ретроградной эякуляции и после тестикулярной аспирации [50]. Обязательным условием, обеспечивающим успех данного метода, должно быть замораживание эякулята до начала лечения, т. к. качество спермы и целостность ДНК сперматозоидов может быть нарушена даже после однократного курса лечения [18,41]. Кроме того, необходимо учитывать, что качество эякулята зависит от типа злокачественного новообразования. При развитии опухоли яичка или лимфоме Ходжкина параметры спермограммы ухудшаются еще до начала терапии [18,41,56]. Многие пациенты вынуждены начать химиотерапию непосредственно после установленного диагноза. Даже в этих случаях целесообразно сделать попытку сохранения спермы в криобанке [41]. После размораживания спермы с небольшим количеством сперматозоидов, оплодотворение возможно с применением метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Применение метода ИКСИ обеспечивает оплодотворение сперматозоидами даже из размороженной ткани яичка, прошедшей криоконсервацию [38,59]. Такой подход особенно целесообразен при проведении орхидэктомии. В мировой практике накоплен большой опыт успешных беременностей, полученных путем инсеминации размороженной спермой в программах ЭКО [42]. Частота наступления беременности в циклах ЭКО при использовании размороженных сперматозоидов не отличается от таковой при использовании нативных сперматозоидов [27].

Исходя из выше сказанного, всем пациентам репродуктивного возраста, которым планируется проведение гонадотоксической терапии, следует предложить провести криоконсервацию спермы, а также информировать о возможности получения беременности методами ЭКО и ИКСИ, если в будущем возникают проблемы с зачатием ребенка.

Криоконсервация ткани яичка у мальчиков

Приблизительно у одного из 650 мальчиков школьного возраста обнаруживается злокачественное образование [66]. Больше чем у 70% из этих мальчиков удается достичь полного излечения [61]. Однако большинство из них оказываются в будущем стерильными [64]. У мальчиков допубертатного возраста невозможно получение гаплоидных половых клеток (сперматозоидов и сперматид). Таким пациентам рекомендуется проведение биопсии

ткани яичка с последующей ее криоконсервацией перед началом лучевой и химиотерапии [6,34].

Для этого на экспериментальных моделях разработан новый подход к сохранению фертильности – использование криоконсервированного биоптата для последующей тестикулярной аутотрансплантации. Существуют два варианта криоконсервации ткани яичка: биоптат яичка может быть заморожен в виде суспензии герминогенных клеток или в виде извитых семенных канальцев. После размораживания в случае использования суспензии герминогенных клеток проводили ее аутотрансплантацию путем инъекции в ткань семенников. В результате инъекции происходило заселение семенных канальцев здоровой популяцией сперматогенных клеток, наблюдалось восстановление дифференцировки сперматогоний, а с течением времени уровень тестостерона в крови у подвергшихся трансплантации мышей приблизился к уровню в контрольной группе [13,30]. В случае криоконсервации целых семенных канальцев после их размораживания проводили трансплантацию целиком биоптата [30]. При этом также подтверждена инициация сперматогенеза после трансплантации. Полученные таким образом сперматозоиды могут быть использованы для оплодотворения с помощью ИКСИ [30].

Таким образом, при использовании этих методов возможно сохранение тестикулярной ткани без потери способности к дифференцировке сперматогенного эпителия. Разработанные схемы могут быть использованы в ближайшие годы для сохранения семенных канальцев с целью последующей аутотрансплантации для инициации сперматогенеза у мальчиков допубертатного и пубертатного возраста. Учитывая стремительное развитие ВРТ технологий в области онкологии, следует перевести криоконсервацию извитых семенных канальцев в клиническую практику [36,67].

Следует однако учитывать то, что при раке яичка вместе с герминогенными клетками могут быть ретрансплантированы атипичные клетки [57]. Поэтому необходимо предъявлять высокие требования к исследованиям образцов ткани на присутствие злокачественных клеток.

Способы сохранения фертильности при онкологических заболеваниях у женщин методами ВРТ

По сравнению с методами сохранения фертильности у мужчин сохранение репродуктивной функции у женщин всегда требует сложных, комплексных и инвазивных методов. С помощью этих методик возможны получение и криоконсервация зрелых и незрелых ооцитов, эмбрионов и ткани яичника. С целью сохранения фертильности при лучевой терапии области малого таза в практике применяют транспозицию яичника из зоны облучения. При химиотерапии – гормональное подавление функции яичников (табл. 2).

Транспозиция яичника

Применение транспозиции яичника в тактике лечения злокачественных новообразований оправдано в случаях лучевой терапии области малого таза. Овариопексия снижает дозу облучения, направленную на яичник, до допустимых доз, не приводящих к стерилизации. Однако овариопексия не исключает повреждающего действия облучения. К тому же, в результате транспозиции возможно нарушение кровоснабжения яичника, поэтому увеличивается вероятность возникновения синдрома преждевременного истощения яичников [47]. Еще одним недостатком этого метода являются растяжение и дисфункция маточных труб, что снижает шансы для наступления маточной беременности и создает повышенный риск трубной беременности. Этот метод не защищает ткань яичника от повреждения при назначении химиотерапии.

Подавление функции яичников (гормональная гонадопротекция)

Бесплодие после химиотерапии у женщин репродуктивного возраста встречается от 30 до 70% случаев [10, 43]. В допубертатном возрасте воздействие химиотерапии на яичники менее выражено. Хорошо известно, что химиотерапия разрушает овариальный резерв яичников. Цитостатики вызывают деструкцию в ядрах клеток гра-

Таблица 2
Способы сохранения фертильности у женщин

Название метода	Описание метода
Транспозиция яичника	Перемещение яичника из зоны облучения
Гормонотерапия	Назначение аналогов ГнРГ при химиотерапии
Криоконсервация незрелых ооцитов	Получение незрелых ооцитов в нестимулированном цикле с последующим культивированием по методике IVM
Криоконсервация зрелых ооцитов	Стимуляция суперовуляции и витрификация полученных ооцитов с последующим хранением в криобанке
Криоконсервация эмбрионов	Стимуляция суперовуляции и криоконсервация эмбрионов с последующим хранением в криобанке
Криоконсервация ткани яичника и аутотрансплантация	Лапароскопическая или лапаротомическая овариоэктомия с криоконсервацией овариального кортекса с последующим хранением в криобанке. После размораживания фрагментов ткани яичника ортотопическая или гетеротопическая аутотрансплантация.

нулезы, приводят к атрезии ооцита [44]. Поэтому подавление оогенеза с помощью агонистов и антагонистов ГнРГ может оказать защитное действие на фолликулогенез. Так, было показано, что число гибнущих фолликулов при проведении химиотерапии снижается благодаря применению аналогов ГнРГ [11, 44]. Через 3-8 мес. после окончания курса химиотерапии в сочетании с аналогами ГнРГ менструальный цикл восстановился у 89,6%, а овуляторные циклы - у 69,2% женщин. У 11,4% развился гипогонадизм. В группе пациенток, не получавших терапию ГнРГ, менструальный цикл восстановился у 33,3%, овуляторные циклы 25,6%, у остальных развился гипогонадизм [9].

Однако такого же снижения повреждающего действия при лучевой терапии выявлено не было [11, 44].

О возможности проведения овариальной стимуляции у онкологических больных

Получение ооцитов и эмбрионов в практике ЭКО чаще всего связано с использованием стимуляции суперовуляции. Однако возможна ли индукция суперовуляции у онкологических больных в России? Согласно приказу Минздрава РФ №67 злокачественные новообразования являются противопоказанием к ЭКО [3]. У пациенток с опухолями репродуктивных органов, а именно яичников, матки, молочных желез, гипофиза и гипоталамуса, стимуляция овуляции однозначно противопоказана. С другой стороны, согласно приказу Минздрава РФ №67, применение ЭКО противопоказано при всех случаях злокачественных новообразований, в том числе и в анамнезе. Мы полагаем, что этот вопрос требует дополнительного обсуждения.

В мировой практике накоплен большой опыт ведения пациентов, имеющих онкологическое заболевание или прошедших противоопухолевое лечение, в программе ЭКО [29, 55]. Химиотерапия в анамнезе не является противопоказанием для реализации репродуктивной функции. Химиотерапия является причиной снижения пула ооцитов в яичниках, но не снижает долю нормально развивающихся эмбрионов [29]. Женщины, перенесшие системную химиотерапию и проходящие в программе ЭКО, обычно нуждаются в применении высоких доз гонадотропинов по причине снижения овариального резерва. Вероятность наступления беременности в таких циклах составляет 13 %, а в случаях, где противоопухолевая терапия ограничивалась только хирургическим лечением, достигает 40 % [29].

Главной опасностью овариальной стимуляции является высокий уровень эстрадиола, который противопоказан при гормон-зависимых опухолях. Избежать высокого уровня эстрадиола возможно при использовании протокола гонадотропиновой стимуляции вместе с ингибиторами ароматазы [55]. Ингибиторы ароматазы блокируют образование эстрогенов из андрогеновых предшественников, что приводит к тому, что уровень эстрадиола в крови определяется ниже, чем в натуральном цикле.

Oktaу К. с соав. считают, что данный протокол стимуляции можно использовать при раке молочной железы [55]. Однако следует учитывать, что любой протокол стимуляции овуляции вносит отсрочку в начало проведения химио- или лучевой терапии приблизительно на 2-4 недели, что может увеличивает вероятность рецидивов [29]. В таких случаях пациентка должна быть максимально информирована, и решение должно быть принято исходя из тяжести основного заболевания. Если принимается решение о стимуляции, у таких пациенток будут применяться протоколы минимальной стимуляции с использованием рекомбинантных препаратов ФСГ и антагонистов ГнРГ, а также агонистов ГнРГ в качестве триггера овуляции. Препараты мочевого ФСГ или содержащие ЛГ нежелательны ввиду достижения более высоких концентраций эстрадиола и яичниковых андрогенов, а также ввиду содержания дополнительных факторов (чХГ, факторы роста и др.), препараты агонистов ГнРГ нежелательны ввиду эффекта стимуляции гипофиза в первую неделю введения препарата. Применение антагонистов ГнРГ с первого дня менструального цикла у таких пациенток представляется перспективным, т. к. позволяет обеспечить наименьший уровень ЛГ с первых дней стимуляции и избежать гиперсекреции эстрадиола.

С другой стороны, если проведение стимуляции суперовуляции противопоказано, то возможно получение незрелых ооцитов в естественном цикле. Эта методика целесообразна у молодых пациенток. Так, на 11-й день нестимулированного менструального цикла пунктируют антральные фолликулы и получают незрелые ооциты. Незрелые ооциты культивируют для созревания (методика «созревания вне организма» - *in vitro maturation* (IVM)) и затем замораживают [15].

Криоконсервация незрелых ооцитов

Получение незрелых ооцитов с последующим IVM успешно используется в практике ВРТ в случаях синдрома поликистозных яичников [14,25]. Метод IVM вызывает большой интерес у клиницистов, т. к. относится к «щадящим» методам ЭКО и исключает полностью стимуляцию яичников гонадотропинами. После пункции фолликулов незрелые ооциты, находящиеся на стадии зародышевого пузырька или метафазы I, культивируются в среде для перехода в стадию метафазы II мейоза. После культивирования ооциты замораживаются. Для замораживания используется метод сверхбыстрой заморозки, позволяющий избежать образования кристаллов льда, называемый витрификацией [15, 58]. Однако следует учитывать, что витрификация ооцитов после IVM менее эффективна, чем витрификация зрелых ооцитов [15]. Также процент наступления беременности после IVM ниже, чем при получении ооцитов, используя стимуляцию овуляции, и составляет 35% против 50% соответственно [14]. На сегодняшний день несколько сотен здоровых детей родилось после методики IVM [25]. Хотя основные условия и технические приемы IVM в целом уже отработаны, метод IVM все еще не так стандартизован как традицион-

ные методики ЭКО. Однако важно знать, что существует этот протокол и он дает шанс онкологическим больным сохранить ооциты в тех случаях, когда проведение стимуляции овуляции невозможно. К тому же IVF протокол требует минимальной отсрочки в противоопухолевом лечении, занимая всего 2 дня [58].

Криоконсервация зрелых ооцитов

В течение последних 20 лет активно совершенствуются методы криоконсервации ооцитов. В мировой практике накоплен значительный опыт успешного получения беременности после размораживания и оплодотворения зрелых ооцитов. На протяжении многих лет стандартным способом криоконсервации ооцитов считался протокол медленного замораживания, при котором доля ооцитов, сохранявшая жизнеспособность, составляла от 50 до 60%. Снижение выживаемости ооцитов было связано с образованием кристаллов льда в процессе замораживания. Поэтому в среднем только каждая пятидесятая оплодотворенная яйцеклетка развивалась и в дальнейшем приводила к наступлению беременности [54]. В настоящее время, избегая образования кристаллов льда, ооциты успешно замораживают методом витрификации. Протоколы витрификации усовершенствованы настолько, что по данным ряда авторов, эффективность оплодотворения не отличается у нативных ооцитов и у ооцитов после витрификации и размораживания [19, 32, 39]. После витрификации выживаемость ооцитов составляет более 80%, наступление беременности после оплодотворения витрифицированных ооцитов - около 50% [17, 37, 40]. Вероятнее всего, онкологические больные должны иметь лучшие по качеству ооциты, по сравнению с женщинами, наблюдающимися в ВРТ центрах. Это объясняется тем, что возраст женщин с онкологическими заболеваниями меньше среднего по ЭКО центрам, и они не страдают бесплодием до начала гонадотоксической терапии. Долговременное хранение в жидком азоте не сказывается на качестве ооцитов. Уже известны случаи рождения детей после более чем 10-летнего хранения эмбрионов в криобанке [60, 69]. Возраст ооцитов является одним из ключевых факторов, определяющих успех эмбрионального развития. Важно подчеркнуть, что за счет хранения в криобанке возраст ооцита останавливается и не увеличивается. К моменту же размораживания ооцитов возраст женщины является естественно увеличенным в отличие от возраста яйцеклеток. Важный вывод - возраст женщины не влияет на возраст и качество ее ооцитов [63]. Это суждение многократно доказано в ВРТ центрах, когда используется программа донорства ооцитов.

Криоконсервация эмбрионов

После первой публикации о наступлении беременности после переноса размороженных эмбрионов криоконсервация стала использоваться во всех клиниках ВРТ [20,68]. Криоконсервация эмбрионов в настоящее время - хорошо отработанная методика и используется как

додневно в практике ЭКО лабораторий для сохранения, оставшихся после переноса эмбрионов в программе ЭКО. В последующем, если беременность не наступит, эти эмбрионы могут быть разморожены и перенесены в полость матки. Наилучший прогноз наступления беременности дает криоконсервация эмбрионов на 5-й день культивирования. В одном цикле стимуляции может быть заморожено в среднем 5-7 эмбрионов. После размораживания эмбрионы могут быть перенесены либо пациентке, либо суррогатной матери. Успех циклов с криоконсервацией эмбрионов зависит в первую очередь от возраста женщины в момент взятия яйцеклеток, и менее зависит от возраста женщины, в матку которой переносят эмбрионы [63]. Эмбрионы могут быть разморожены и перенесены без снижения успеха наступления беременности из-за течения времени, что очень важно в случаях долгосрочного хранения их при онкологической патологии. Эффективность наступления беременности составляет в среднем около 30% [5]. Поэтому криоконсервация достаточного числа (10-20) эмбрионов требует иногда двух или трех циклов стимуляции овуляции, что занимает 2-3 месяца и отодвигает начало противоопухолевой терапии.

Недостатком метода криоконсервации эмбрионов у пациенток с онкологическими заболеваниями следует признать необходимость отсрочки в противоопухолевой терапии, наличие постоянного партнера или супруга и его согласие на криоконсервацию, а также необходимость проведения овариальной стимуляции, что противопоказано при некоторых гормоно-зависимых новообразованиях. В то же время криоконсервация эмбрионов остается сегодня единственно одобренным онкологами методом сохранения генетического материала при онкологических заболеваниях у женщин.

Криоконсервация овариальной ткани с последующей аутотрансплантацией

Криоконсервация ткани яичника в настоящее время становится важной составной частью как ВРТ, так и комплексного лечения злокачественных новообразований. Хотя исследования по криоконсервации ткани яичника активно ведутся с прошлого века [4], криоконсервация овариальной ткани является сравнительно новым методом в ВРТ. Основная цель этого метода заключается в сохранении фолликулярного резерва у молодых женщин, а также у девочек перед началом противоопухолевой терапии [22, 31, 51]. Криоконсервация ткани яичника имеет ряд преимуществ перед криоконсервацией ооцитов и эмбрионов. Она не требует стимуляции овуляции, наличия постоянного партнера репродуктивного возраста и, главное, не требует отсрочки в проведение противоопухолевой терапии.

Получение ткани яичника может быть отдельным хирургическим вмешательством или проводиться в комплексе с операцией по поводу основного заболевания. Криоконсервации подвергается не весь яичник, а только кортикальный слой, т. к. именно он содержит весь пул примордиальных фолликулов. Этот метод сохраняет весь

криобанке и аутооттрансплантацию ткани яичника. В программу также входит обязательное проведение мониторинга гормонального статуса пациенток после овариэктомии и после аутооттрансплантации. По результатам данного исследования выполнено 12 аутооттрансплантаций. В 7 случаях пациентки наблюдались у репродуктолога по поводу мониторинга фолликулогенеза и планирования беременности. В одном случае была получена зрелая яйцеклетка [2].

Заключение

Прогресс в методах практической онкологии привел к тому, что при планировании тактики противоопухолевой терапии учитываются, в том числе и возможности

максимального сохранения репродуктивной функции пациентов. Методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) позволяют перед химио- и лучевой терапией получить и криоконсервировать сперму, тестикулярную ткань, ооциты, эмбрионы и ткань яичника. Таким образом, в настоящее время появилась возможность сохранить репродуктивный потенциал онкологических больных. Такое объединение двух разных по направлению медицинских областей онкологии и репродуктивной медицины в ближайшее время сформирует новое направление — онкофертильность. Это будут специалисты-онкологи, которые будут определять тактику сохранения фертильности при онкологических заболеваниях.

Список литературы

1. Быстрова О.В., Деникина Ю.В., Татильская Н.И., Лисянская А.С., Манихас Г.М. Криоконсервация овариальной ткани у пациенток со злокачественными и доброкачественными новообразованиями органов репродуктивной системы // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2006. – Том IV, вып. 4. – С.63-69.
2. Быстрова О.В., Калугина А.С., Татильская Н.И., Цыбатова Е.В., Деникина Ю.В., Лисянская А.С., Манихас Г.М. Фолликулогенез и получение зрелой яйцеклетки после гетеротопической аутооттрансплантации размороженной ткани яичника // Тезисы XVIII международной конференции РАРЧ “Репродуктивные технологии сегодня и завтра”. – 2008. – С.43.
3. О применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в терапии женского и мужского бесплодия. Приказ Минздрава РФ №67 от 26 февраля 2003 г.
4. Пушкарь Н.С. и др. Низкотемпературная консервация и трансплантация яичника / Рига. – 1972. – 480 С.
5. Российская Ассоциация Репродукции Человека. Отчет за 2007 г. – 32 С.
6. Allan J.A., Cotman A.S. A new method for freezing testicular biopsy sperm: three pregnancies with sperm extracted from cryopreserved sections of seminiferous tubule // Fertil. Steril. – 1997. – Vol.68. – P. 741-744.
7. Andersen C.Y., Rosendahl M., Byskov A.G., Loft A., Ottosen C., Dueholm M., Schmidt K.L., Andersen A.N., Ernst E. Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue // Hum. Reprod. – 2008. – Vol.23. – P.2266-2272.
9. Bailliere, s Clinical Haematology. International Practice and Research. Hodgkin, s Disease. Guest editor V. Diehi. – London, Bailliere Tindall. – 1996. – Vol.9. Suppl.3.
10. Badawy A., Elmashar A., El-Ashry M., Sbabat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study // Fertil. Steril. – 2009. – Vol.91. – №3. – P. 694-697.
11. Bines J., Oleske D.M., Cobleigh M.A. Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer // J. Clin. Oncol. – 1996. – Vol.14. – №5. – P.1718-1729.
12. Blumenfeld Z. Ovarian rescue/protection from chemotherapeutic agents // J. Soc. Gynecol. Investig. – 2001. – Vol.8. – №1. Suppl Proceed. – P. S60-64.
13. Boeckelbeide K., Schoenfeld H.A., Hall S.J. et al. Gonadotropin-releasing hormone antagonist (Cetrorelix) therapy fails to protect nonhuman primates (*Macaca arctoides*) from radiation-induced spermatogenic failure // J. Androl. – 2005. – Vol.26. – №2. – P. 222-234.
14. Brook P.F. et al. Isolation of germ cells from human testicular tissue for low temperature storage and autotransplantation. // FERT. STERIL. – 2001. – Vol.75. – №2. – P. 269-274.
15. Chian R.C., Buckett W.M., Tan S.L. In-vitro maturation of human oocytes // Reprod. Biomed. Online. – 2004. – Vol.8. – P.148-66.
16. Chian R.C., Gilbert L., Huang J.Y. et al. Live birth after vitrification of in vitro matured human oocytes // Fertil. Steril. – 2009. – Vol.91. – №2. – P.372-376.
17. Chian R.C., Huang J.Y., Gilbert L. et al. Obstetric outcomes following vitrification of in vitro and in vivo matured oocytes. // Fertil. Steril. – 2009. – Vol.91. – №6. – P.2391-2398.
18. Chian R.C., Son W.Y., Huang J.Y. et al. High survival rates and pregnancies of human oocytes following vitrification: preliminary report // Fertil. Steril. – 2005. – Vol.84. – P.336.
19. Chung K., Irani J., Knee G. et al. Sperm cryopreservation for male patients with cancer: an epidemiological analysis at the University of Pennsylvania // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2004. – Vol.113. – №5. Suppl.1. – P.7-11.
20. Cobo A., Kuwayama M., Perez S. et al. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. // Fertil. Steril. – 2008. – Vol.89. №6. – P.1657-1664.

21. *Coben J., Simons R.F., Edwards R.G. et al.* Pregnancies following the frozen storage of expanding human blastocyst // *J. In Vitro Fert. Embryo Transf.* – 1985. – Vol.2. – P.59-64.
22. *Demeestere I., Simon P., Buxant F., Robin V., Fernandez S.A., Centner J., Delbaere A., Englert Y.* Ovarian function and spontaneous pregnancy after combined heterotopic and orthotopic cryopreserved ovarian tissue transplantation in a patient previously treated with bone marrow transplantation: case report // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol.21. – P.2010-2014.
23. *Donnez J., Bassil S.* Indications for cryopreservation of ovarian tissue // *Hum. Reprod. Update.* – 1998. – Vol.4. – №3. – P.248-259.
24. *Donnez J., Dolmans M.M., Demylle D., Jadoul P., Pirard C., Squifflet J., Martinez-Madrid B., van Langendonck A.* Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue // *Lancet.* – 2004. – Vol.364. – P.1405-1410.
25. *Duska L.R., Chang Y.C., Flynn C.E., Chen A.H., Goodman A., Fuller A.F., Nikrui N.* Epithelial ovarian carcinoma in the reproductive age group // *Cancer.* – 1999. – Vol.85. – №12. – P. 2623-2629.
26. *Edwards R.G.* In vitro maturation of human oocytes: basic science to clinical application / eds. Tan S.L., Chian R.C., Buckett W.M. – London. – Informa. – 2006.
27. *Feldschub J., Brassel J., Durso N., Levine A.* Successful sperm storage for 28 years // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol.84, №4. – P.1017.
28. *Fidler S., Raziell A., Soffer Y.* Intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved testicular spermatozoa in patients with nonobstructive azoospermia – a comparative study // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol.68. – P. 892-897.
29. *Fosse S.D., Magelssen H., Melve K., Jacobsen A.B., Langmark F., Skjaerven R.* Parenthood in survivors after adulthood cancer and perinatal health in their offspring: a preliminary report // *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* – 2005. – Vol.34. – P. 77-82.
30. *Ginsburg E.S., Yanushpolsky E.H., Jackson K.V.* In vitro fertilization for cancer patients and survivors // *Fertil. Steril.* – 2001. – Vol.75. – №4. – P.705-710.
31. *Gosden R.G., Matthews S.J., Kim S.S., Schlatt S.* Potential fertility in mice after isografting cryopreserved testicular tissue // *Biol. Reprod.* – 2000. – Vol.62. – Suppl.1. – P.190.
32. *Gosden R., Nagano M.* Preservation of fertility in nature and ART // *Reproduction.* – 2002. – Vol.123. – №1. – P.3-11.
33. *Grifo J.A., Noyes N.* Delivery rate using cryopreserved oocytes is comparable to conventional in vitro fertilization using fresh oocytes: potential fertility preservation for female cancer patients // *Fertil. Steril.* – 2009. – article in press. – P.1-6.
34. *Hodgkin, s disease.* Ed. By Mauch P.V., Armitage J.O., Diehl V. et al. – Philadelphia. – 1999.
35. *Hovatta O.* Cryopreservation of testicular tissue in young cancer patients // *Hum. Reprod. Update.* – 2001. – Vol.7. – №4. – P. 378-83.
36. *Johnson D.H., Linde R., Hainsworth J.D. et al.* Effect of luteinizing hormone releasing hormone agonist given during combination chemotherapy on posttherapy fertility in male patients with lymphoma: preliminary observations // *Blood.* – 1985. – Vol.65. – P.832-836.
37. *Karrow A.M., Crister J.K.* Reproductive Tissue Banking: Scientific Principles / Academic Press. – San Diego. – 1997.
38. *Katayama K.P., Steblik J., Kuwayama M. et al.* High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy. // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol.80. – P. 223-224.
39. *Khalifeh F.A., Sarraf M., Dabit S.T.* Full-term delivery following intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa extracted from frozen-thawed testicular tissue // *Hum. Reprod.* – 1997. – Vol.12. – №1. – P. 87-88.
40. *Kuwayama M., Leibo S.P.* Efficiency of the cryotop method to cryopreserve human oocytes; analysis of in vitro and in vivo results at eleven IVF clinics // *Fertil. Steril.* – 2008. – Vol.90. – Suppl.1. – P. S281-S282.
41. *Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P.* Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2005. – Vol.11. – P.300-308.
42. *Lass A., Akagbosu F., Abusheikha N. et al.* A programme of semen cryopreservation for patients with malignant disease in a tertiary infertility centre: lessons from 8 years' experience // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol.13. – №11. – P. 3256-3261.
43. *Lass A., Akagbosu F., Brinsden P.* Sperm banking and assisted reproduction treatment for couples following cancer treatment of the male partner // *Hum. Reprod. Update.* – 2001. – Vol.7. – №4. – P. 370-377.
44. *Lower E.E., Blau R., Gazder P., Tummala R.* The risk of premature menopause induced by chemotherapy for early breast cancer // *J. Womens Health Gend. Based Med.* – 1999. – Vol.8. – №7. – P. 949-954.
45. *Meirow D.* Ovarian injury and modern options to preserve fertility in female cancer patients treated with high dose radio-chemotherapy for hemato-oncological neoplasias and other cancers // *Leuk. Lymphoma.* – 1999. – Vol.33. – №1-2. – P. 65-76.
46. *Meirow D., Levron J., Eldar-Geva T., Hardan I., Fridman E., Zalel Y., Schiff E., Dor J.* Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol.353. – P.318-321.
47. *Meirow D., Lewis H., Nugent D., Epstein M.* Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool // *Hum. Reprod.* – 1999. – Vol.14. – №7. – P.1903-1907.
48. *Meirow D., Nugent D.* The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction // *Hum. Reprod. Update.* – 2001. – Vol.7. – №6. – P. 535-543.

49. *Meistrich M.L.* Hormonal stimulation of the recovery of spermatogenesis following chemo- or radiotherapy // *ARMIS*. – 1998. – Vol.106. – №1. – P.37-45.
50. *Meistrich M.L., Shetty G.* Suppression of testosterone stimulates recovery of spermatogenesis after cancer treatment // *Int. J. Androl.* – 2003. – Vol.26. – №3. – P.141-146.
51. *Meseguer M., Garrido N., Remohi J. et al.* Testicular sperm extraction (TESE) and ICSI in patients with permanent azoospermia after chemotherapy // *Hum Reprod.* – 2003. – Vol.18. – №6. – P.1281-1285.
52. *Newton H.* The cryopreservation of ovarian tissue as a strategy for preserving the fertility of cancer patients // *Hum. Reprod. Update.* – 1998. – Vol.4. – №3. – P. 237-47.
53. *Oktay K.* Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: preliminary findings and implications for cancer patients. // *Hum. Reprod. Update.* – 2001. – Vol.7. – №6. – P.526-534.
54. *Oktay K., Buyuk E., Rosenwaks Z., Rucinski J.* A technique for transplantation of ovarian cortical strips to the forearm // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol.80. – №1. – P.193-198.
55. *Oktay K., Cil A.P., Bang H.* Efficiency of oocyte cryopreservation: a metaanalysis // *Fertil. Steril.* – 2006. – Vol.86. – P. 70–80.
56. *Oktay K., Hourvitz A., Sabin G. et al.* Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol.91. – №10. – P.3885-3890.
57. *Padron O.F., Sharma R.K., Thomas A.J.Jr., Agarwal A.* Effects of cancer on spermatozoa quality after cryopreservation: a 12-year experience // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol.67. – №2. – P. 326-331.
58. *Radford J.A., Shalet S.M., Liberman B.A.* Fertility after treatment for cancer. Question remain over after preserving ovarian and testicular tissue // *Br. Med. J.* – 1999. – Vol.319. – P.935-936.
59. *Rao G.D., Chian R.C., Son W.S. et al.* Fertility preservation in women undergoing cancer treatment // *Lancet.* – 2004. – Vol.363. – P.1829-1830.
60. *Res U., Res P., Kastelic D. et al.* Birth after treatment of a male with seminoma and azoospermia with cryopreserved-thawed testicular tissue // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol.15. – №4. – P.861-864.
61. *Revel A., Safran A., Laufer N. et al.* Twin delivery following 12 years of human embryo cryopreservation: case report // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol.19. – P.328-329.
62. *Robison L.L.* Methodologic issues in the study of second malignant neoplasms and pregnancy outcomes. // *Med. Pediatr. Oncol.* – 1996. – Suppl.1. – P.41-44.
63. *Rosendahl M., Loft A., Byskov A.G. et al.* Biochemical pregnancy after fertilization of an oocyte aspirated from a heterotopic autotransplant of cryopreserved ovarian tissue: case report // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol.21. – №8. – P. 2006-2009.
64. *Sauer M.W.* Infertility and early pregnancy loss is largely due to oocyte aging, not uterine senescence, as demonstrated by oocyte donation // *Ann. NY Acad. Sci.* – 1997. – Vol.828. – P.166-174.
65. *Sherins R.J.* Gonadal dysfunction / In *Cancer: Principles and Practice of Pediatric Oncology.* – Hellman S., Rosenberg S.A. – V.T. De Vita. – Philadelphia: J.B.Lippincott. – 1993. – P. 2395-2406.
66. *Steliarova-Foucher E., Stiller C., Kaatsch P., Berrino F., Coebergh J.W., Lacour B., Parkin M.* Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study // *Lancet.* – 2004. – Vol.364. – P. 2097-2105.
67. *Stiller C.A., Allen M.B., Eatock E.M.* Childhood cancer in Britain: the National Registry of Childhood Tumours and incidence rates 1978-1987 // *Eur. J. Cancer.* – 1995. – Vol.31. – №12. – P.2028-2034.
68. *Tesaric J., Bahceci M., Ozcan C.* Restoration of fertility by in vitro spermatogenesis // *Lancet.* – 1999. – Vol.353. – P. 555-556.
69. *Trounson A., Mober L.* Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo // *Nature.* – 1983. – Vol.305. – P. 707-709.
70. *Whittingham D., Lyon M., Glenister P.* Long-term storage of mouse embryos at 196C: the effect of background radiation. // *Genet. Res.* – 1977. – Vol.29. – P.171-181.