



Криоконсервация как вспомогательная репродуктивная технология

И.Р. Абдулазимова¹, Л.Л. Межидова², Р.С. Баркинхоева³, З.У. Зариева³, З.Х. Абадиева³,
Х.Р. Магамадова⁴, А.Л. Вазираева⁴, А.А. Бжекшиева⁴, Д.А. Богатырёва⁴, Э.А. Кауц⁵,
М.А. Баянова⁴, Х.У. Умарова⁴, Х.А. Сатыев⁴, М.А.Ф. Касем⁴

¹ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет имени А.А. Кадырова»;

Россия, 364907 Грозный, ул. Асланбека Шерипова, д. 32;

²ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации; Россия, 362019 Республика Северная Осетия–
Алания, Владикавказ, ул. Пушкинская, д. 40;

³ФГБОУ ВО «Ингушский государственный университет»;

Россия, 386001 Магас, проспект И. Зязикова, д. 7;

⁴ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова»;
Россия, 360004 Нальчик, ул. Чернышевского, д.173;

⁵ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени
В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
Россия, 410012 Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Для контактов: Марита Аслановна Баянова, e-mail: bayanovamarita@gmail.com

Резюме

Введение. По данным Всемирной организации здравоохранения, бесплодие возникает примерно у каждого шестого человека в течение репродуктивного возраста. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), в частности экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), существуют уже более трех десятилетий, и благодаря им в мире родились миллионы детей. Криоконсервация позволяет хранить большое количество клеток и тканей, и применяется в медицине для разных целей, включая ЭКО.

Цель: на основании литературных данных проанализировать физические принципы, методы и перспективы криоконсервации в репродуктивной медицине.

Мы предоставляем данную авторскую версию для обеспечения раннего доступа к статье. Эта рукопись была принята к публикации и прошла процесс рецензирования, но не прошла процесс редактирования, верстки, присвоения порядковой нумерации и корректуры, что может привести к различиям между данной версией и окончательной отредактированной версией статьи.

We are providing this an author-produced version to give early visibility of the article. This manuscript has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the final typeset and edited version of the article.

Материалы и методы. Анализ научных публикаций отечественных и зарубежных авторов проводился в базах данных PubMed/MEDLINE, Google Scholar и eLibrary за период с 1953 г. по сентябрь 2024 г. Были использованы ключевые слова и их английские эквиваленты: «бесплодие», «вспомогательные репродуктивные технологии», «экстракорпоральное оплодотворение», «криоконсервация», «криопротекторы», «криопротективные агенты», «витрификация», «отбор половых клеток», «криоконсервация спермы», «криоконсервация женских половых клеток», «криоконсервация эмбрионов», «infertility», «assisted reproductive technologies», «in vitro fertilization», «cryopreservation», «cryoprotectants», «cryoprotective agents», «vitrification», «gamete selection», «sperm cryopreservation», «female gamete cryopreservation», «embryo cryopreservation». В обзор преимущественно включались полнотекстовые статьи на русском и английском языках, опубликованные в рецензируемых научных журналах, содержащие оригинальные данные или систематизированный анализ, а также сведения об эффективности, безопасности и биологическом воздействии методов криоконсервации. Для исторического и контекстуального освещения темы также были использованы отдельные монографии, обзоры, нормативные документы и материалы научных конференций при условии их значимости для раскрытия исследуемых вопросов. Такие источники не включались в оценку эффективности методов, но рассматривались в контексте исторического развития технологий и этико-правовых аспектов. Всего проанализировано 5876 публикаций, из которых в итоговый обзор отобраны 74.

Результаты. Систематизированы физико-химические принципы криоконсервации, классификация криопротекторов (англ. cryoprotective agents, CPA), а также сравнительная эффективность различных методов замораживания: медленного, быстрого, мгновенного и витрификации. Установлено, что витрификация обеспечивает наивысшую выживаемость ооцитов и эмбрионов по сравнению с традиционным замораживанием, особенно при использовании высококонцентрированных CPA в комбинации с непроникающими агентами. Проанализированы альтернативные носители и биоматериалы (например, гиалуронан-фенольные микрокапсулы, Volvox globator), демонстрирующие потенциал для криоконсервации единичных сперматозоидов. Обобщены подходы к оценке качества гамет после оттаивания, включая новые перспективные методы, такие как анализ свободной внеклеточной ДНК и применение искусственного интеллекта для морфологической оценки эмбрионов. Выявлены нерешенные вопросы, связанные с высокой токсичностью CPA, отсутствием унифицированных клинических протоколов, а также этическими и правовыми аспектами обращения с криоматериалом. Установлена необходимость дальнейших исследований, направленных на разработку безопасных и эффективных протоколов криоконсервации в рамках вспомогательных репродуктивных технологий.

Заключение. В ходе анализа были выявлены пробелы, касающиеся оптимизации клинических протоколов криоконсервации эмбрионов и женских половых клеток. На сегодняшний день предпочтительным методом остается витрификация, обеспечивающая наилучшие показатели выживаемости биологического материала.

Ключевые слова: бесплодие, вспомогательные репродуктивные технологии, криоконсервация

Для цитирования: Абдулазимова И.Р., Межидова Л.Л., Баркинхоева Р.С., Зариева З.У., Абдиева З.Х., Магамадова Х.Р., Вазикаева А.Л., Бжекшиева А.А., Богатырёва Д.А., Кауц Э.А., Баянова М.А., Умарова Х.У., Сатиев Х.А., Касем М.А.Ф. Криоконсервация как вспомогательная репродуктивная технология. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2025;[принятая рукопись]. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2025.651>.

Cryopreservation as an assisted reproductive technology

Iman R. Abdulazimova¹, Leyla L. Mezhidova², Rabbiya S. Barkinkhoeva³, Zeinap U. Zariyeva³, Zukhra Kh. Abadiyeva³, Khava R. Magamadova⁴, Amina L. Vazikaeva⁴, Aliya A. Bzhekshieva⁴, Disana A. Bogatyreva⁴, Elza A. Kauts⁵, Marita A. Bayanova⁴, Khadishat U. Umarova⁴, Khusein A. Satuev⁴, Mohammed A.F. Qasem⁴

¹Kadyrov Chechen State University; 32 Aslanbek Sheripov Str., Grozny, 364907 Russia;

²North Ossetian State Medical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation; 40 Pushkinskaya Str., Vladikavkaz, Republic of North Ossetia–Alania 362019, Russia;

³Ingush State University; 7 Zyazikov Avenue, Magas 386001, Russia;

⁴Berbekov Kabardino-Balkarian State University; 173 Chernyshevsky Str., Nalchik 360004, Russia;

⁵Razumovsky Saratov State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation; 112 Bolshaya Kazachya Str., Saratov 410012, Russia

Corresponding author: Marita A. Bayanova, e-mail: bayanovamarita@gmail.com

Abstract

Introduction. According to the World Health Organization, infertility affects approximately one in six reproductive-age people. Assisted reproductive technologies (ART), particularly in vitro fertilization (IVF), have been available for more than three decades and have resulted in the birth of millions of children worldwide. Cryopreservation allows for the storage of large numbers of cells and tissues and is used in medicine for various purposes, including IVF.

Aim: to analyze literature-based data on physical principles, methods, and prospects of cryopreservation in reproductive medicine.

Materials and Methods. A review of scientific publications reported by domestic and international authors was conducted using the PubMed/MEDLINE, Google Scholar, and eLibrary databases from 1953 to September 2024. The following keywords were retrieved: “infertility”, “assisted

reproductive technologies”, “in vitro fertilization”, “cryopreservation”, “cryoprotectants”, “cryoprotective agents”, “vitrification”, “gamete selection”, “sperm cryopreservation”, “female gamete cryopreservation”, “embryo cryopreservation”. There were predominantly reviewed full-text articles in Russian and English published in peer-reviewed scientific journals, containing original data or systematic analysis, as well as information on the effectiveness, safety, and biological impact of cryopreservation methods. For historical and contextual coverage of the topic, selected monographs, reviews, regulatory documents, and conference materials were also used, provided their relevance to the subject matter. These sources were not included in the assessment of method effectiveness but were considered in the context of the timeline for the technologies and ethical-legal aspects. A total of 5,876 publications were analyzed, of which 74 were included in the final review.

Results. The physical and chemical principles of cryopreservation, classification of cryoprotective agents (CPA), as well as comparative effectiveness for various freezing methods (slow, rapid, ultra-rapid, and vitrification) were systematized. It was established that vitrification provides the highest survival rates for oocytes and embryos compared to conventional freezing, particularly when high-concentration CPAs are used in combination with non-penetrating agents. An effect of alternative carriers and biomaterials (e.g., hyaluronan-phenolic hydroxyl microcapsules, Volvox globator) for single-sperm cryopreservation was examined. Approaches to assessing gamete quality after thawing were summarized, including promising methods such as cell-free DNA analysis and the application of artificial intelligence for embryo morphology assessment. Unresolved issues were identified, including high CPAs-related toxicity, lack of standardized clinical protocols, as well as ethical and legal concerns regarding cryomaterial handling. The need for further research aimed at developing safe and effective ART-related cryopreservation protocols is emphasized.

Conclusion. The analysis revealed knowledge gaps related to the optimization of clinical cryopreservation protocols for embryos and female gametes. Currently, vitrification remains the preferred method, providing the highest survival rates for biological material.

Keywords: infertility, assisted reproductive technologies, cryopreservation

For citation: Abdulazimova I.R., Mezhidova L.L., Barkinkhoeva R.S., Zarieva Z.U., Abadieva Z.Kh., Magamadova Kh.R., Vazikaeva A.L., Bzhekshieva A.A., Bogatyreva D.A., Kauts E.A., Bayanova M.A., Umarova Kh.U., Satuev Kh.A., Kasem M.A.F. Cryopreservation as an assisted reproductive technology. *Akusherstvo, Ginekologia i Reprodukcia = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2025:[accepted manuscript]. (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2025.651>.

Основные моменты	Highlights
Что уже известно об этой теме?	What is already known about this subject?
На современном этапе развития общества на первое место выходят проблемы демографии и показатели здоровья населения. Инструментом решения проблемы может быть использование вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).	At the current stage of society development, demographic issues and population health indicators come to the forefront. The use of assisted reproductive technologies (ART) can be a tool for solving this issue.
Криоконсервация позволяет уменьшить расходы клеток, расширяет возможности для использования донорского материала, а также применяется для научных целей. Существенный недостаток данного метода – влияние на жизнеспособность клеток (их механическая травматизация, токсический эффект, изменение метаболической активности).	Cryopreservation allows to reduce cell loss, expands opportunities for using donor material also being used for scientific purposes. A significant disadvantage of this method is that it affects cell viability (via mechanical trauma, toxic effect, altered metabolic activity).
Остро стоит вопрос правового регулирования и финансового обеспечения работы с биоматериалом, его сохранности и проведения генетических исследований полученного биоматериала с целью его дальнейшего применения.	The major concern is related to legal regulation and financial support for using biomaterial, its preservation and genetic research of the obtained biomaterial for its further application.
Что нового дает статья?	What are the new findings?
Витрификация обеспечивает наивысшую выживаемость ооцитов и эмбрионов по сравнению с традиционным замораживанием, особенно при использовании комбинаций высококонцентрированных проникающих и непроникающих криопротекторов (CRA).	Vitrification provides the highest survival rates for oocytes and embryos compared to conventional freezing method, especially while using combinations of high-concentration penetrating and non-penetrating cryoprotective agents (CPAs).
Выявлены перспективные альтернативы традиционным носителям: микрокапсулы на основе гиалуронана и Volvox globator демонстрируют потенциал для криоконсервации единичных сперматозоидов.	Promising alternatives to traditional carriers have been identified: hyaluronan-based microcapsules and Volvox globator show potential for cryopreservation of individual spermatozoa.
Проанализированы нерешенные вопросы, связанные с высокой токсичностью криопротекторов и отсутствием унифицированных клинических протоколов. Обоснована необходимость внедрения инновационных методов оценки качества гамет и эмбрионов, включая анализ внеклеточной ДНК и искусственный интеллект, как одного из наиболее перспективных направлений в репродуктивной медицине.	Unresolved issues related to high cryoprotectants-related toxicity and the lack of standardized clinical protocols have been analyzed. The necessity to implement innovative methods for assessing the quality of gametes and embryos, including cell-free DNA analysis and artificial intelligence, has been justified as one of the most promising directions in reproductive medicine.
Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?	How might it impact on clinical practice in the foreseeable future?
Необходима разработка клинических протоколов применения CRA с учетом их потенциальной токсичности.	The obtained data highlight a need to develop clinical protocols for CPA use, taking into account their potential toxicity.
Необходима разработка стандартизированных клинических протоколов криоконсервации эмбрионов и женских половых клеток.	It is necessary to develop standardized clinical protocols for the cryopreservation of embryos and female gametes.
Применение искусственного интеллекта в визуальной оценке эмбрионов – одно из наиболее перспективных направлений в репродуктивной медицине.	The application of artificial intelligence in embryo morphological assessment is considered one of the most promising directions in reproductive medicine.

Введение/ Introduction

По определению Всемирной организации здравоохранения, бесплодие – расстройство мужской или женской репродуктивной системы, определяемое как неспособность добиться беременности после регулярных незащищенных половых актов на протяжении 12 или более месяцев [1]. В последние годы изменение условий окружающей среды из-за непрерывной индустриализации и психологических стрессов привело к широкой распространенности бесплодия во всем мире [2, 3]. По данным различных авторов, удельный вес в этиологии бесплодия занимают генетические факторы и некоторые особенности образа жизни [4–6].

Кроме того, этиология, связанная с мужским бесплодием, включает в себя врожденные (анорхизм, крипторхизм, врожденное отсутствие семявыносящего протока, генетические аномалии) и приобретенные (перекрут яичка, травма яичка, хирургическое вмешательство и т. д.) факторы [7–9]. В настоящее время частота бесплодия неясного генеза составляет 10–30 % у бесплодных пар, 10–17 % – у бесплодных женщин [13]. Распространенными идентифицируемыми факторами женского бесплодия являются следующие: нарушения овуляции (25 %), эндометриоз (15 %), спайки (12 %), непроходимость маточных труб (11 %), другие аномалии маточных труб/матки (11 %), гиперпролактинемия (7 %) [14].

Государственной программой обязательного медицинского страхования (ОМС) с 2018 г. предусмотрена возможность прохождения базовой программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) с возможностью криоконсервации эмбрионов и дальнейшим их переносом в полость матки [15]. Программы ЭКО по ОМС стали выполняться не только в государственных, но и в частных репродуктивных центрах, что способствовало расширению их географии, диверсификации услуг за счет лечения невынашиваемости, формированию собственных криобанков, организации андрологических и подростковых отделений, перехода от агрессивных лекарственных технологий к современным, приближенным к естественным процедурам [16]. По данным Н.Н. Шевлюк, в России в 2019 г. количество родов с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) составило 2,4 % [17]. Растущий спрос на ВРТ и усовершенствование методов криоконсервации меняют терапевтический подход в лечении бесплодия.

В условиях роста частоты применения ВРТ особое значение приобретает совершенствование методов криоконсервации гамет и эмбрионов. До сих пор не выработаны единые подходы к выбору криопротекторов, режимам замораживания и оттаивания, что снижает эффективность процедур. Кроме того, сохраняются пробелы в понимании влияния различных физических и химических факторов на жизнеспособность репродуктивных клеток

после размораживания. Настоящий обзор направлен на систематизацию современных знаний в данной области.

Цель: на основании литературных данных проанализировать физические принципы, методы и перспективы криоконсервации в репродуктивной медицине.

Материалы и методы / Materials and Methods

Выполнен анализ научных публикаций отечественных и зарубежных авторов в базах данных PubMed/MEDLINE, Google Scholar и eLibrary, начиная с 1953 г. до сентября 2024 г. Использованы следующие комбинации ключевых слов и их аналоги на английском языке: «бесплодие», «вспомогательные репродуктивные технологии», «экстракорпоральное оплодотворение», «криоконсервация», «криопротекторы», «криопротективные агенты», «витрификация», «отбор половых клеток», «криоконсервация спермы», «криоконсервация женских половых клеток», «криоконсервация эмбрионов», «infertility», «assisted reproductive technologies», «in vitro fertilization», «cryopreservation», «cryoprotectants», «cryoprotective agents», «vitrification», «gamete selection», «sperm cryopreservation», «female gamete cryopreservation», «embryo cryopreservation». В анализ были включены публикации по следующим критериям: преимущественно полнотекстовые статьи на русском и английском языках, содержащие оригинальные данные или систематизированный анализ по криоконсервации спермы, ооцитов, эмбрионов и применению криопротекторов (англ. cryoprotective agents, CPA), с оценкой эффективности, безопасности и биологического воздействия методов. Также в обзор были включены отдельные монографии, материалы конференций и нормативные документы, имеющие значимость для раскрытия исторических, технических и этико-правовых аспектов темы. В обзор не включались публикации без научной новизны, нерцензируемые источники, фрагменты без полного текста, а также письма в редакцию и редакционные комментарии. Всего проанализировано 5876 публикаций, из которых в итоговый обзор отобраны 74. На **рисунке 1** представлена блок-схема PRISMA с подробным алгоритмом поиска исследований.

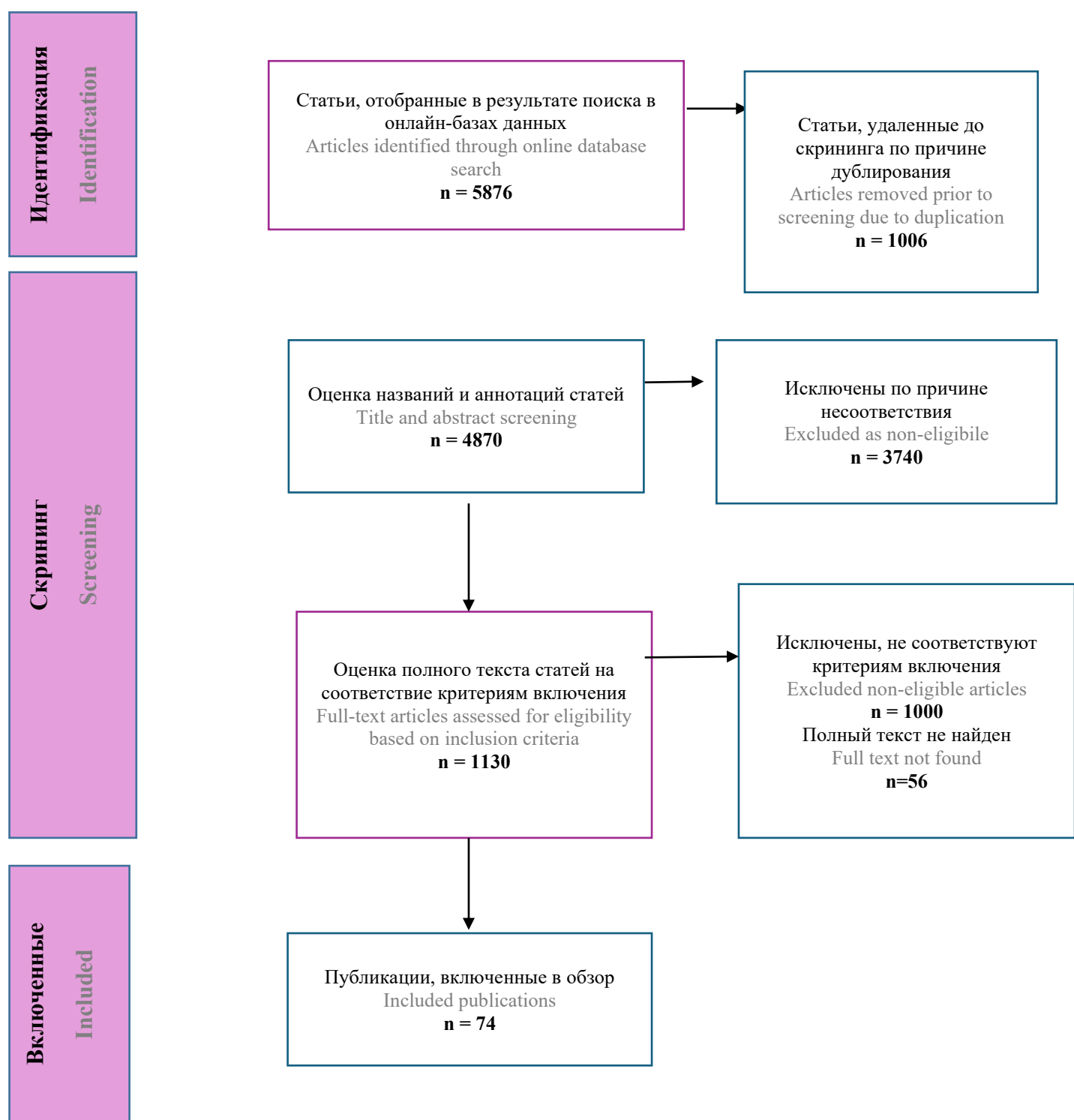


Рисунок 1. Блок-схема PRISMA.

Figure 1. PRISMA flow diagram.

Результаты / Results

Историческое развитие и современные методы криоконсервации в репродуктивных технологиях / Historical development and current cryopreservation methods in reproductive technologies

Идея искусственного оплодотворения берет свое начало еще в XVII веке, когда А. Левенгук предположил возможность его осуществления. Уже в XIX веке были проведены успешные трансплантации эмбрионов между животными, завершившиеся рождением потомства. В середине XX века технологии вспомогательной репродукции стали приобретать практическое значение, сначала в животноводстве, а затем, к концу столетия, и в медицине. Существенный вклад в адаптацию этих методов для клинической практики внесли британские исследователи: физиолог и ветеринар Роберт Джеффри Эдвардс (1925–2013), усовершенствовавший технологию ЭКО, и акушер-гинеколог Патрик Кристофер Стептоу (1913–1988), разработавший метод лапароскопического извлечения ооцитов. Благодаря их совместной работе в 1978 г. на свет появился первый ребенок, зачатый с помощью ЭКО и переноса эмбриона в полость матки [17].

Основываясь на исторических данных [17, 18], впервые возможность сперматозоидов сохранять свою подвижность даже при воздействии низких температур была замечена С. Spallanzani в 1780 г. [19]. Сами исследования эффектов криоконсервации на живую ткань датируются концом 1800-х годов, когда ученые использовали эту технологию для сохранения как сперматозоидов, так и эритроцитов. Результаты исследований выявили недостатки в процессе криоконсервации, связанные с повышенной частотой бесплодия, вызванной ранней гибелью эмбриона.

Прорыв в области криоконсервации произошел в 1950-х годах, когда J.E. Lovelock обнаружил, что процесс криоконсервации вызывает осмотический стресс в клетке, мгновенно замораживая жидкость, что напрямую способствовало образованию кристаллов льда в эритроцитах [20].

Метод криоконсервации заключается в замораживании биологического материала (сперма, яйцеклетки, эмбрионы, овариальная ткань) с целью его длительного хранения. Пониженные температуры, приводящие к прекращению метаболических процессов в клетках, создают условия для длительного хранения биологического материала в замороженном состоянии. В современной практике применяются различные подходы к криоконсервации: медленное замораживание с понижением температуры на 0,5–1,0 °C в минуту, быстрое замораживание со скоростью 50–400 °C/мин, ультрабыстрое (мгновенное) – до 2500 °C/мин, а также витрификация, при которой температура изменяется с чрезвычайно высокой скоростью – около 20000 °C/мин [21]. Среди ключевых ограничений и противопоказаний к применению данной процедуры выделяют ограниченный срок

функционирования яичниковых трансплантатов, что обусловлено риском ишемического повреждения в раннем посттрансплантационном периоде. Это может приводить к быстрой атрезии фолликулов. Подобные риски особенно значимы у пациенток с изначально низким овариальным резервом в пересаженной ткани, а также при наличии аутоиммунных или наследственных заболеваний, снижающих эффективность криопротоколов [21].

Опрос, проведенный Консорциумом по мониторингу экстракорпорального оплодотворения в Европе (англ. European In Vitro Fertilisation Monitoring Consortium, EIM) Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (англ. European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE) в период с 2010 по 2014 гг., сообщил о 34705 циклах криоконсервации ооцитов в 17 странах [22]. В целом, количество зарегистрированных циклов криоконсервации ооцитов непрерывно увеличивалось в течение 5-летнего периода. Однако качество данных является изменчивым и неточным, что подчеркивает необходимость в более строгих национальных реестрах, предназначенных для сбора подробной информации о показаниях, использовании, протоколах гормональной подготовки, безопасности и эффективности репродуктивной криоконсервации как ооцитов, так и эмбрионов. В отдельном ежегодном обзоре европейских данных BPT группа EIM добавила вопрос, касающийся использования криоконсервированных ооцитов в циклах BPT [23].

Криоконсервация половых клеток / Germ cell cryopreservation

Криоконсервация сперматозоидов / Spermatozoa cryopreservation

Перед использованием в программах BPT сперматозоиды необходимо как можно скорее подвергнуть процедуре отмывки в специализированных средах. Эти среды, хранящиеся при +4 °C, предварительно подогревают до физиологической температуры +37 °C перед применением [24–38]. Отделение сперматозоидов от семенной плазмы осуществляется посредством смешивания образца спермы с культуральной средой, последующей фильтрации и многократной центрифугации с добавлением свежих порций среды. Такая обработка позволяет удалить вещества, угнетающие процесс капацитации – приобретения сперматозоидами способности к оплодотворению. После отмывки клетки инкубируют в питательной среде с добавками, стимулирующими капацитацию. Полученную суспензию объемом 0,2 мл помещают в стерильные чашки Петри, покрывают слоем минерального масла для предотвращения испарения и помещают в инкубатор на 3–5 часов. Инкубация проводится в условиях строго контролируемого микроклимата: при температуре +37 °C, относительной влажности 95 % и газовом составе, содержащем 5 % CO₂, 5 % O₂ и 90 % N₂ [25].

Замораживание спермы обычно используется для криоконсервации не только эякулированных, но и неэякулированных сперматозоидов.

По данным A.P. Rios и I.M. Botella, криоконсервация спермы может быть достигнута как с помощью равновесных, так и неравновесных процедур [28], которые в литературе обычно называются замораживанием спермы и витрификацией. Несмотря на попытки внедрить витрификацию человеческих сперматозоидов в качестве единого протокола в клиническую практику, традиционное замораживание по-прежнему остается наиболее широко используемым протоколом для клинических целей. Однако в результате воздействия криоконсервации, связанной с повреждением сперматозоидов, показатели жизнеспособности размороженных образцов остаются низкими. Криоконсервация вызвана как механическим, так и осмотическим стрессом, и, хотя криопротекторные соединения необходимы для замораживания спермы, они также являются источником осмотического повреждения, когда их уровни превышают оптимальную концентрацию.

В связи с этим оптимизация протоколов криоконсервации для увеличения количества жизнеспособных сперматозоидов в размороженных образцах должна подвергаться дальнейшим улучшением.

Методика замораживания отдельных сперматозоидов / Single sperm cryopreservation

Развитие технологии интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) расширило терапевтические возможности ВРТ для мужчин с азооспермией посредством хирургической или чрескожной изоляции сперматозоидов. Методика замораживания отдельных сперматозоидов была впервые разработана в 1997 г. и была исследована с точки зрения замороженных носителей, программ замораживания и формул криопротекторов. Среди этих методов достижения в области замороженных носителей напрямую улучшили технологию замораживания отдельных сперматозоидов [26]. По данным S. Liu и F. Li, стандартные протоколы криоконсервации недостаточны для сохранения отдельных сперматозоидов [29].

Криоконсервация отдельных сперматозоидов в сфере Volvox globator (под подвижных колониальных организмов) / Cryopreservation of individual spermatozoa in the sphere of Volvox globator (a genus of motile colonial organisms)

Volvox globator является альтернативой в странах, где запрещено деструктивное использование ооцитов, даже после неудачного оплодотворения. В 2004 г. A. Just с соавт. использовали *Volvox globator* в качестве транспортного средства для криоконсервации отдельных сперматозоидов. Уровень восстановления сперматозоидов составил 100 %, а уровень подвижности после размораживания составил не менее 60 % [30]. Хотя

использование Volvox globator показало обнадеживающие результаты, метод требует дальнейших исследований для оценки его эффективности и клинической применимости.

Полые микрокапсулы гиалуронан-фенольного гидроксила / Hollow microcapsules of hyaluronan-phenolic hydroxyl

В 2016 г. К. Tomita с соавт. показали, что полые микрокапсулы гиалуронан-фенольного гидроксила (англ. hyaluronan-phenolichydroxyl, HA-Ph) можно использовать для криоконсервации небольшого количества сперматозоидов без неблагоприятного воздействия на качество спермы [31]. Три сперматозоида были введены в полую микрокапсулу HA-Ph с помощью микроманипулятора. Капсулы были помещены в устройства Cryotop, содержащие 1 мкл криопротектора. Доля активных сперматозоидов составила 14 % после процесса размораживания. Исследование показало, что полые микрокапсулы HA-Ph с разницей в диаметре в несколько десятков микрометров не влияют на подвижность сперматозоидов после замораживания и их оттаивания [32]. Гиалуронидаза не влияет на подвижность сперматозоидов. Скорость восстановления подвижных сперматозоидов была относительно низкой из-за замораживания агрегированного желатина, что приводило к повреждению плазматических мембран сперматозоидов [33–35]. Восстановление сперматозоидов путем деградации капсул является благоприятным, поскольку предотвращает физическое повреждение ядерной структуры.

Ооциты / Oocytes

Первое получение зрелых яйцеклеток человека вне овариального фолликула было осуществлено в 1939 г. [36]. Однако последующие наблюдения показали, что внешне неизмененные клетки либо не способны к оплодотворению, либо приводят к аномальному развитию эмбрионов. Это привело к пониманию необходимости использования исключительно зрелых ооцитов, находящихся в стадии метафазы II мейоза (MII), как наиболее подходящих для успешного зачатия [37].

В зрелых фолликулах яичника ооциты, как правило, находятся на стадии метафазы I или II и содержат полоидит, так называемое направительное (редукционное, полярное) тельце, свидетельствующее о завершении мейотического деления [37–39]. После извлечения из яичника яйцеклетки переносятся в специально разработанные питательные среды, обеспечивающие строгий контроль стерильности, температуры и осмотического давления [40–44]. Существенным фактором в поддержании их жизнеспособности и функциональной активности *in vitro* является качество среды культивирования. За годы развития репродуктивной медицины эволюция питательных составов прошла путь от простых солевых растворов с эмбриональными экстрактами и сывороткой до стандартизированных,

промышленно производимых, высокоочищенных сред, содержащих все необходимые компоненты – аминокислоты, витамины, микроэлементы и соли [45].

Экстракорпоральное оплодотворение предполагает осуществление контролируемой гиперстимуляции яичников женщины и инвазивное извлечение яйцеклеток, которые связаны с определенными рисками для жизни и здоровья женщины. Для снижения рисков применяется метод криоконсервации и хранения яйцеклеток и/или эмбрионов, оставшихся после переноса, для использования их в будущем на случай ненаступления желаемой беременности [46].

Согласно результатам многоцентрового исследования, проведенного А. Собо с соавт. с участием 1468 пациенток различных возрастных групп, было установлено, что витрификация ооцитов сопровождается ростом кумулятивной частоты живорождений в зависимости от количества использованных ооцитов. Максимальный показатель живорождения (85,2 %) был достигнут при использовании 15 ооцитов после их размораживания [45].

На данный момент нет установленного клинического протокола, и поэтому исследования криоконсервации женских гамет и эмбрионов нельзя считать завершенными. Более того, необходимыми являются дальнейшие разработки вопросов безопасности, создания автоматизации и исследований о потенциале незрелых половых клеток или стволовых клеток [46–48].

Криоконсервация эмбрионов / Embryos cryopreservation

Основное достоинство криоконсервации эмбрионов заключается в снижении риска синдрома гиперстимуляции яичников, возможности избежать повторной стимуляции суперовуляции, а также в повышении кумулятивного показателя наступления беременности [49–51].

F. Guerif с соавт. провели исследование с целью оценки соответствующих влияний выживаемости blastomeres и возобновления митоза на исход замороженных-размороженных эмбрионов [52]. Результаты исследования показывают, что наиболее важным фактором для прогнозирования дальнейшего развития эмбриона является общее количество blastomeres в перенесенных эмбрионах, как бы они ни были получены (хорошее выживание и/или возобновление митоза).

Сходные результаты были продемонстрированы в исследовании Ю.А. Якубец с соавт., где авторы показали, что сохранность эмбрионов значительно возрастает при применении поэтапных методик насыщения и удаления криопротектора. В частности, при использовании четырехэтапного насыщения и трехэтапного удаления глицерина уровень сохранности эмбрионов оказался на 13,8 процентных пункта выше по сравнению с

одномоментным насыщением и удалением (при 10 % глицерине), и на 18,0 процентных пункта выше по сравнению с протоколом одномоментного насыщения и трехэтапного удаления при концентрации 1,4 М глицерина [53].

Анализ научных данных показывает неточность имеющейся информации по особенностям режимов подготовки эндометрия к переносу размороженных эмбрионов [54–56].

Основным фактором, определяющим успешность исходов проведения ВРТ, является качество эмбриона. Внедрение преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) в практику ВРТ способствовало повышению эффективности программ за счет более точной оценки качества эмбрионов. Тем не менее ряд факторов, таких как инвазивный характер процедуры, наличие клеточного мозаицизма и зарегистрированные случаи рождения генетически здоровых детей после переноса эмбрионов с анеуплоидиями [57], ставят под сомнение абсолютную надежность метода. Кроме того, предполагаемая способность эмбрионов к спонтанной коррекции генетических нарушений на ранних этапах развития требует критического пересмотра значимости ПГТ [58]. В этой связи особую актуальность приобрел метод анализа свободной внеклеточной ДНК (англ. cell-free DNA, cfDNA), обнаруженной в среде культивирования, что открыло перспективы для неинвазивной оценки генетического статуса эмбрионов. К основным перспективным направлениям в дальнейших исследованиях качества эмбриона относится применение искусственного интеллекта с целью визуального анализа эмбриона на основании полученных изображений.

Криопротекторы / Cryoprotectors

К сожалению, даже самые эффективные протоколы и технологии криоконсервации не могут гарантировать полного контроля молекулярных процессов, ответственных за спонтанное ухудшение биологических образцов [59]. Дегидратация клетки и кристаллизация цитоплазмы являются основными процессами, представляющие опасность для сохранения жизнеспособности биологического материала.

В образцах клеток сам процесс криоконсервации может нарушить целостность хранимого материала, вызывая повреждение клеток. Наиболее важные эффекты затрагивают клеточную мембрану и являются следствием химических и механических (в основном, осмотических и вызванных кристаллами льда) напряжений, возникающих во время замораживания [60]. К ним относятся изменения липидных и белковых взаимодействий, функции мембранных рецепторов, передачи сигнала, проницаемости и транспортных механизмов.

Кроме того, в ходе криоконсервации было установлено, что перекисное окисление липидов является одним из ключевых механизмов повреждения клеточных мембран. Оно

выступает пусковым фактором для ряда других неблагоприятных клеточных изменений, включая окислительный стресс, повреждение ДНК и белков, аномальную липидную сигнализацию и активацию апоптоза [61].

С целью предотвращения образования внутриклеточного льда замораживание обычно включает в себя протоколы медленного охлаждения со скоростью охлаждения приблизительно 1 °C/мин. Однако разные типы клеток имеют неодинаковые оптимальные скорости охлаждения [62].

Криопротекторные и цитопротекторные агенты (англ. cytoprotective agents, CPA) используются для предотвращения этих недостатков криоконсервации как в клеточных, так и в надклеточных образцах [63]. CPA уменьшают образование льда при любой температуре за счет увеличения концентрации растворенных веществ. Эти агенты используются для защиты целостности клеточной мембраны, избегая повреждения мембранных липидов и, следовательно, других клеточных компонентов, включая клеточные белки и нуклеиновые кислоты. Идеальный CPA должен быть способен предотвращать нежелательное окисление, разрушительное воздействие процесса криоконсервации на физические и химические свойства мембраны и другие клеточные повреждения. Эти свойства составляют основу цитопротекторной функции CPA.

Цитопротекторные агенты подразделяют на 2 основные группы: непроникающие и проникающие агенты. К непроникающим агентам относят полиэтиленгликоль, фикоилл, сахарозу, к проникающим – ацетамид, пропиленгликоль, этиленгликоль, диметилсульфоксид, глицерин. Основным ограничением в использовании данных CPA в протоколах криоконсервации, является их значительная токсичность. Довольно детально свойства токсичности CPA были описаны в работах R. Raju с соавт. [60], S. Wojcik с соавт. [61], O.D. Erol с соавт. [62]. Основное решение данной проблемы заключается в необходимости разработки новых клинических протоколов для CPA.

При проведении криоконсервации могут быть использованы альтернативные соединения, способные ингибировать окисление. К ним относятся антиоксиданты, которые могут предотвращать эффекты окислительного стресса при криоконсервации, и критические компоненты специализированных клеток и тканей, такие как аскорбиновая кислота и хондроитинсульфат в хрящевой ткани, мелатонин [63–66].

По D. Whaley с соавт., к новым важным подходам может быть отнесено внедрение дополнительных предкриозтапов, таких как предварительная инкубация с глюкозой и антиоксидантами, альгинатная инкапсуляция и выбор клеток в оптимальном диапазоне возраста и функциональной способности [59].

Метод витрификации / Vitrification method

Витрификация – это отдельный от замораживания физический процесс, происходящий при так называемой «температуре стеклования»: от -80 до -130 °C. При витрификации образцы затвердевают без образования кристаллов льда. Под витрификационной жидкостью принято считать смесь непроникающего криопротектора (полиэтиленгликоль, фиколл, сахароза) и высококонцентрированного проникающего криопротектора (ацетамид, пропиленгликоль, глицерол, этиленгликоль) в буферном солевом растворе [67–70].

Важно отметить, что нагревание после криоконсервации может привести к травме из-за образования кристаллов льда, которое может произойти как после замораживания, так и после витрификации. В этом смысле «рекристаллизация льда» обозначает этот разрушительный процесс роста крупных кристаллов льда во время оттаивания замороженных клеток или тканей. Примечательно и несколько нелогично, что «расстекловывание» обозначает процесс кристаллизации во время нагревания и после витрификации.

М. Schulz с соавт. изучали вопрос анализа методологии витрификации [70]. Данные показали высокую эффективность способов сохранения функции сперматозоидов.

В исследовании D. Shah с соавт. был проведен анализ и предложен метод оптимизации простого метода витрификации спермы, который, по мнению авторов, должен обеспечивать высокую выживаемость сперматозоидов для клинического использования [71]. На 1,0 мл спермы было наложено 0,5 мл стандартной среды для обработки гамет, в исследовании использовалась специализированная культуральная среда Quinn's Advantage™ (REF ART-1023, Cooper Surgical, Дания), содержащая 10 мг/мл человеческого сывороточного альбумина, что обеспечивало оптимальные условия для витрификации сперматозоидов и повышения их выживаемости после размораживания. Время инкубации для процедуры всплытия составляло 45 минут. Верхние 0,4 мл, содержащие подвижную фракцию сперматозоидов, аспирировали, оставляя поверхность, и разбавляли той же средой для обработки гамет до достижения конечной концентрации 10×10^6 /мл. Затем эту суспензию смешивали по каплям с равным объемом (1:1) свежеприготовленного 0,5 М раствора сахарозы при осторожном перемешивании до получения конечной концентрации сперматозоидов 5×10^6 /мл. Подвижность и жизнеспособность сперматозоидов после размораживания показывали хорошие результаты.

По данным Я.Н. Кравчук с соавт. [72], К.В. Краснопольской с соавт. [73], А.Р. Пурге [74] метод витрификации обеспечивал высокую выживаемость эмбрионов.

Существующие ограничения и перспективы / Existing limitations and prospects

Криоконсервация и хранение эмбрионов, половых клеток применяются для сохранения фертильности, в частности, для лиц, страдающих определенными заболеваниями. Криоконсервация спермы используется в случаях лечения онкологических больных, которые проходят химиолучевую терапию или вазэктомию, приводящих к нарушению фертильности. Женщины с раком молочной железы подвергаются гонадотоксическому лечению, влияющему на их фертильность, в связи с чем криоконсервация эмбрионов или ооцитов может содействовать сохранению фертильности и рождению детей после выздоровления женщины. Таким образом, криоконсервация стала общепризнанным методом сохранения клеток и тканей, включая сперму, ооциты, а также ткани яичников и эмбрионов, которые теперь криоконсервируются в больших масштабах.

В настоящее время основными подходами к криоконсервации являются замораживание (т. е. жидкая фаза переходит в твердую кристаллическую фазу) и витрификация (т. е. затвердевание до стеклообразного состояния без образования льда). Методы замораживания и витрификации обычно различаются по тому, происходит ли рост кристаллов льда во время охлаждения образца или соответственно подавляется. Следует отметить, что метод замораживания подходит для обработки образцов различного объема, включая крупные, тогда как витрификация преимущественно используется для небольших по объему образцов [60–62].

Несмотря на значительные достижения, криоконсервация сопровождается рядом существенных ограничений, связанных преимущественно с правовыми и этико-социальными аспектами. Вопросы совершенствования репродуктивных технологий и продления репродуктивного потенциала неизбежно затрагивают сферу биоэтики, включая моральные установки общества, культурные традиции, менталитет и специфику государственного регулирования. Одним из актуальных вызовов остается проблема обеспечения конфиденциальности: так называемая «угроза анонимности» касается как детей, рожденных с применением ВРТ, так и биоматериалов, хранящихся в криобанках. Последние получают, регистрируют и используют образцы от доноров в научных или иных целях, включая возможную передачу третьим лицам даже при наличии формального государственного контроля. Во многом это обусловлено отсутствием унифицированной формы информированного согласия, четко определяющей объем прав пациента на использование собственного биологического материала.

Заключение / Conclusion

Истоки исследований низкотемпературного хранения тканей восходят к концу 1800-х годов. Более полувека спустя было обнаружено, что осмотический стресс является основным фактором гибели клеток во время криоконсервации. Следовательно, добавление СРА, таких

как диметилсульфоксид, глицерин, этиленгликоль или пропиленгликоль, хотя и токсичных для клеток в высоких концентрациях, было определено как необходимый шаг для защиты от апоптоза во время криоконсервации. В дополнение к осмотическому стрессу было также показано, что скорости охлаждения и оттаивания оказывают значительное влияние на выживаемость клеток во время низкотемпературного хранения.

Современные технологии криоконсервации основаны на двух принципиально разных подходах: классическом замораживании с образованием кристаллов льда и витрификации, при которой материал переходит в аморфное стеклообразное состояние без кристаллизации. Основное отличие между этими методами заключается в контроле за процессом формирования льда: при замораживании он допускается, а при витрификации полностью подавляется. Замораживание может применяться к образцам большого объема, тогда как витрификация требует минимальных объемов, что обусловлено необходимостью достижения сверхвысокой скорости охлаждения для предотвращения кристаллизации.

Каждая техника имеет свои преимущества и недостатки. В ходе анализа были выявлены значительные пробелы в знаниях, касающиеся совершенствования клинических протоколов криоконсервации эмбрионов и женских половых клеток. В настоящее время наибольшее предпочтение отдается методу витрификации, обеспечивающему более высокую выживаемость биологического материала.

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ	ARTICLE INFORMATION
Поступила: 02.06.2025. В доработанном виде: 06.07.2025. Принята к печати: 23.07.2025. Опубликована онлайн: 28.07.2025.	Received: 02.06.2025. Revision received: 06.07.2025. Accepted: 23.07.2025. Published online: 28.07.2025.
Вклад авторов	Author's contribution
Все авторы внесли равный вклад в написание и подготовку рукописи.	All authors contributed equally to the article.
Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.	All authors have read and approved the final version of the manuscript.
Конфликт интересов	Conflict of interests
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interests.
Финансирование	Funding
Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки.	The authors declare no funding.
Комментарий издателя	Publisher's note
Содержащиеся в этой публикации утверждения, мнения и данные были созданы ее авторами, а не издательством ИРБИС (ООО «ИРБИС»). Издательство ИРБИС снимает с себя ответственность за любой ущерб, нанесенный людям или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или препаратов, упомянутых в публикации.	The statements, opinions, and data contained in this publication were generated by the authors and not by IRBIS Publishing (IRBIS LLC). IRBIS Publishing disclaims any responsibility for any injury to peoples or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred in the content.
Права и полномочия	Rights and permissions
ООО «ИРБИС» обладает исключительными правами на эту статью по Договору с автором (авторами) или другим правообладателем (правообладателями). Использование этой статьи регулируется исключительно условиями этого Договора и	IRBIS LLC holds exclusive rights to this paper under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s). Usage of this paper is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Литература:

1. Zegers-Hochschild F., Adamson G.D., de Mouzon J. et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Hum Reprod.* 2009;24(11):2683–7. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep343>.
2. Bártolo A., Reis S., Monteiro S. et al. Psychological adjustment of infertile men undergoing fertility treatments: an association with sperm parameters. *Arch Psychiatr Nurs.* 2016;30(5):521–6. <https://doi.org/10.1016/j.apnu.2016.04.014>.
3. Тювина Н.А., Николаевская А.О. Бесплодие и психические расстройства у женщин. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2019;11(4):117–24. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2019-4-117-124>.
4. Beke A. Genetic causes of female infertility. *Exp Suppl.* 2019;111:367–83. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0942-0>.
5. Жураев И.И., Хайдаров О.Л., Бобокулов Н.А. Мужское бесплодие. *Proceedings of International Conference on Scientific Research in Natural and Social Sciences.* 2023;2(3):163–70.
6. Tschudin S., Bitzer J. Psychological aspects of fertility preservation in men and women affected by cancer and other life-threatening diseases. *Hum Reprod Update.* 2009;15(5):587–97. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp016>.
7. Kenney L.B., Antal Z., Ginsberg J.P. et al. Improving male reproductive health after childhood, adolescent, and young adult cancer: progress and future directions for survivorship Research. *J Clin Oncol.* 2018;36(21):2160–8. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.76.3839>.
8. Dishuck C.F., Perchik J.D., Porter K.K. et al. Advanced imaging in female infertility. *Curr Urol Rep.* 2019;20(11):77. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0942-0>.
9. Bala R., Singh V., Rajender S. et al. Environment, lifestyle, and female infertility. *Reprod Sci.* 2021;28(3):617–38. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00279-3>.
10. Mustafa M., Sharifa A.M., Hadi J.E. et al. Male and female infertility: causes, and management. *IOSR J Dent Med Sci.* 2019;18(9):27–32. <https://doi.org/10.9790/0853-1809132732>.
11. Арипова Т.У., Мусаходжаева Д.А., Файзуллаева Н.Я., Ярмухамедов А.С. Различные аспекты бесплодия у мужчин (обзор литературы). *Журнал теоретической и клинической медицины.* 2020;(4):141–5.
12. Галимов Ш.Н., Божедомов В.А., Галимова Э.Ф. и др. Мужское бесплодие: молекулярные и иммунологические аспекты: монография. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 204 с.

13. Киракосян Е.В., Назаренко Т.А., Павлович С.В. Поиск причин формирования нарушений репродуктивной системы: обзор научных исследований. *Акушерство и гинекология*. 2021;(11):18–25. <https://doi.org/10.18565/aig.2021.11.18-25>.
14. No C.O. Female age-related fertility decline. *Fertil Steril*. 2014;101(3):633–4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.032>.
15. Сонголова Е.Н. Контроль учета ЭКО по ОМС. Материалы Второго съезда медицинских статистиков Москвы «Статистика здравоохранения нового времени». М., 2020. 84–6.
16. Sidorova T.F. Philosophical analysis of procreation in the value dimension. *Population and Economics*. 2020;4(4):57–66. <https://doi.org/10.3897/popecon.4.e58271>.
17. Шевлюк Н.Н. Фундаментальные основы, биологические, медицинские и социальные аспекты вспомогательных репродуктивных технологий: история создания, современное состояние и перспективы. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2024;13(2):100–9. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-100-109>.
18. Walters E.M., Benson J.D., Woods E.J. et al. The history of sperm cryopreservation. In: *Sperm banking: Theory and practice*. Cambridge University Press, 2009. 1–10.
19. Castellani C. Spermatozoan biology from Leeuwenhoek to Spallanzani. *J Hist Biol*. 1973;6:37–68. <https://doi.org/10.1007/BF00137298>.
20. Lovelock J.E. The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. *Biochim Biophys Acta*. 1953;10(3):414–26. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(53\)90273-X](https://doi.org/10.1016/0006-3002(53)90273-X).
21. Jang T.H., Park S.C., Yang J.H. et al. Cryopreservation and its clinical applications. *Integr Med Res*. 2017;6(1):12–8. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.12.001>.
22. Shenfield F., de Mouzon J., Scaravelli G. et al. ESHRE Working Group on Oocyte Cryopreservation in Europe. Oocyte and ovarian tissue cryopreservation in European countries: statutory background, practice, storage and use. *Hum Reprod Open*. 2020;2020:hoaa016. <https://doi.org/10.1093/hropen/hox003>.
23. Calhaz-Jorge C., de Geyter C., Kupka, M.S. et al. European IVF-Monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2016;31(2):233–48. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex264>.
24. Одинцова И.А., Русакова С.Э., Шмидт А.А., Тимошкова Ю.Л. Криоконсервация половых клеток: история и современное состояние вопроса. *Гены и клетки*. 2021;16(3):44–51. <https://doi.org/10.23868/202110005>.

25. Öztürk A.E., Bucak M.N., Bodu M. et al. Cryobiology and cryopreservation of sperm. In: Cryopreservation – Current Advances and Evaluations. Ed. M. Quain. *IntechOpen*, 2019. 1–52 <https://doi.org/10.5772/intechopen.89789>.
26. AbdelHafez F., Bedaiwy M., El-Nashar S.A. et al. Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2009;15(2):153–64. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn061>.
27. Di Santo M., Tarozzi N., Nadalini M, Borini A. Human sperm cryopreservation: update on techniques, effect on DNA integrity, and implications for ART. *Adv Urol*. 2012;2012:854837. <https://doi.org/10.1155/2012/854837>.
28. Rios A.P., Botella I.M. Description and outcomes of current clinical techniques for sperm cryopreservation. *EMJ Reprod Health*. 2019;7(1):79–92. <https://doi.org/10.33590/emjreprohealth/10310343>.
29. Liu S., Li F. Cryopreservation of single-sperm: where are we today? *Reprod Biol Endocrinol*. 2020;18(1):41. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00600-5>.
30. Just A., Gruber I., Wöber M. et al. Novel method for the cryopreservation of testicular sperm and ejaculated spermatozoa from patients with severe oligospermia: a pilot study. *Fertil Steril*. 2004;82(2):445–7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.12.050>.
31. Tomita K., Sakai S., Khanmohammadi M. et al. Cryopreservation of a small number of human sperm using enzymatically fabricated, hollow hyaluronan microcapsules handled by conventional ICSI procedures. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(4):501–11. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0656-x>.
32. Glander H.J., Schaller J. Hidden effects of cryopreservation on quality of human spermatozoa. *Cell Tissue Bank*. 2000;1(2):133–42. <https://doi.org/10.1023/A:1010122800157>.
33. Isachenko V., Isachenko E., Katkov I.I. et al. Cryoprotectant-free cryopreservation of human spermatozoa by vitrification and freezing in vapor: effect on motility, DNA integrity, and fertilization ability. *Biol Reprod*. 2004;71(4):1167–73. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.028811>.
34. Maheshwari A., Bhattacharya S. Elective frozen replacement cycles for all: ready for prime time? *Hum Reprod*. 2013;28(1):6–9. <https://doi.org/10.1093/humrep/des386>.
35. Cohen J., Alikani M. The time has come to radically rethink assisted reproduction. *Reprod Biomed Online*. 2013;27(4):323–4. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.08.001>.
36. Bosch E., De Vos M., Humaidan P. The future of cryopreservation in assisted reproductive technologies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:67. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00067>.

37. McLaughlin M., Albertini D.F., Wallace W.H.B. et al. Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system. *Mol Hum Reprod*. 2018;24(3):135–42. <https://doi.org/10.1093/molehr/gay002>.
38. Gook D.A., Edgar D.H. Cryopreservation of female reproductive potential. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2019;55:23–36. <https://doi.org/10.18565/aig.2020.4.195-200>.
39. Hussein R.S., Khan Z., Zhao Y. Fertility preservation in women: indications and options for therapy. *Mayo Clin Proc*. 2020;95(4):770–83. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.10.009>.
40. Rivas Leonel E.C., Lucci C.M., Amorim C.A. Cryopreservation of human ovarian tissue: a review. *Transfus Med Hemother*. 2019;46(3):173–81. <https://doi.org/10.1159/000499054>.
41. Taylor M.J., Weegman B.P., Baicu S.C. et al. New approaches to cryopreservation of cells, tissues, and organs. *Transfus Med Hemother*. 2019;46(3):197–215. <https://doi.org/10.1159/000499453>.
42. Pegg D.E. The history and principles of cryopreservation. *Semin Reprod Med*. 2002;20(1):5–13. <https://doi.org/10.1055/s-2002-23515>.
43. Torquato P., Giusepponi D., Bartolini D. et al. Pre-analytical monitoring and protection of oxidizable lipids in human plasma (vitamin E and ω -3 and ω -6 fatty acids): an update for redox-lipidomics methods. *Free Radic Biol Med*. 2021;176:142–8. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.09.012>.
44. Pegg D.E. Principles of cryopreservation. *Methods Mol Biol*. 2007;368:39–57. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2_3.
45. Cobo A., García-Velasco J. A., Coello A. et al. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril*. 2016;105(3):755–64. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.027>.
46. Ferraretti A.P., Gianaroli L., Magli C. et al. Elective cryopreservation of all pronucleate embryos in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome: efficiency and safety. *Hum Reprod*. 1999;14(6):1457–60. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.6.1457>.
47. Shapiro B.S., Daneshmand S.T., Garner F.C. et al. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril*. 2011;96(2):344–8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.05.050>.
48. Aghahosseini M., Aleyasin A., Sarfjoo F.S. et al. In vitro fertilization outcome in frozen versus fresh embryo transfer in women with elevated progesterone level on the day of HCG injection: an RCT. *Int J Reprod Biomed*. 2017;15(12):757–62.

49. Alteri A., Pisaturo V., Somigliana E. et al. Cryopreservation in reproductive medicine during the COVID-19 pandemic: rethinking policies and European safety regulations. *Hum Reprod.* 2020;35(12):2650–7. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa210>.
50. Christianson M.S., Stern J.E., Sun F. et al. Embryo cryopreservation and utilization in the United States from 2004-2013. *F S Rep.* 2020;1(2):71–7. <https://doi.org/10.1016/j.xfre.2020.05.010>.
51. Ladeira C., Koppen G., Scavone F. et al. The comet assay for human biomonitoring: eEffect of cryopreservation on DNA damage in different blood cell preparations. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2019;843:11–7. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.02.002>.
52. Guerif F., Bidault R., Cadoret V. et al. Parameters guiding selection of best embryos for transfer after cryopreservation: a reappraisal. *Hum Reprod.* 2002;17(5):1321–6. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.5.1321>.
53. Якубец Ю.А., Дешко А.С., Голубец Л.В. и др. Эффективность криоконсервации эмбрионов, полученных в культуре in vitro. *Международный вестник ветеринарии.* 2020;(3):169–75.
54. Rienzi L.F., Iussig B., Dovere L. et al. Perspectives in gamete and embryo cryopreservation. *Semin Reprod Med.* 2018;36(5):253–64. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1677463>.
55. Telfer E.E. Future developments: In vitro growth (IVG) of human ovarian follicles. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(5):653–8. <https://doi.org/10.1111/aogs.13592>.
56. Anderson R.A., Baird D.T. The development of ovarian tissue cryopreservation in Edinburgh: translation from a rodent model through validation in a large mammal and then into clinical practice. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(5):545–9. <https://doi.org/10.1111/aogs.13560>.
57. Hong B., Hao Y. The outcome of human mosaic aneuploid blastocysts after intrauterine transfer: a retrospective study. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(9):e18768. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018768>.
58. Gleicher N., Orvieto R.J. Is the hypothesis of preimplantation genetic screening (PGS) still supportable? A review. *J Ovarian Res.* 2017;10(1):21. <https://doi.org/10.1186/s13048-017-0318-3>.
59. Whaley D., Damyar K., Witek R.P. et al. Cryopreservation: an overview of principles and cell-specific considerations. *Cell Transplant.* 2021;30:963689721999617. <https://doi.org/10.1177/0963689721999617>.
60. Raju R., Bryant S.J., Wilkinson B.L. et al. The need for novel cryoprotectants and cryopreservation protocols: Insights into the importance of biophysical investigation and cell permeability. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2021;1865(1):129749. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129749>.

61. Bojic S., Murray A., Bentley B.L. et al. Winter is coming: the future of cryopreservation. *BMC Biol.* 2021;19(1):56. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-00976-8>.
62. Erol O.D., Pervin B., Seker M.E. et al. Effects of storage media, supplements and cryopreservation methods on quality of stem cells. *World J Stem Cells.* 2021;13(9):1197–214. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i9.1197>.
63. Crisol M., Wu K., Laouar L. et al. Antioxidant additives reduce reactive oxygen species production in articular cartilage during exposure to cryoprotective agents. *Cryobiology.* 2020;96:114–21. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.07.008>.
64. Manchester L.C., Coto-Montes A., Boga J.A. et al. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res.* 2015;59(4):403–19. <https://doi.org/10.1111/jpi.12267>.
65. Marcantonini G., Bartolini D., Zatini L. et al. Natural cryoprotective and cytoprotective agents in cryopreservation: a focus on melatonin. *Molecules.* 2022;27(10):3254. <https://doi.org/10.3390/molecules27103254>.
66. Len J.S., Koh W.S.D., Tan S.X. The roles of reactive oxygen species and antioxidants in cryopreservation. *Biosci Rep.* 2019;39(8):BSR20191601. <https://doi.org/10.1042/BSR20191601>.
67. Trounson A., Wood C., Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril.* 1994;62(2):353–62. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)56891-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)56891-5).
68. Полякова М.В. Криоконсервация сперматогониальных стволовых клеток: возможности клинического применения для сохранения фертильности у пациентов предпубертатного возраста. *Журнал медико-биологических исследований.* 2017;5(3):33–42. <https://doi.org/10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.33>.
69. Белова Д.А. Актуальные проблемы криоконсервации и хранения репродуктивного биоматериала человека. *Lex Genetica.* 2024;3(3):26–43. <https://doi.org/10.17803/lexgen-2024-3-3-26-43>.
70. Schulz M., Risopatrón J., Uribe P. et al. Human sperm vitrification: a scientific report. *Andrology.* 2020;8(6):1642–50. <https://doi.org/10.1111/andr.12847>.
71. Shah D., Rasappan, Shila, Gunasekaran K. A simple method of human sperm vitrification. *MethodsX.* 2019;6:2198–204. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.09.022>.
72. Кравчук Я.Н., Калугина А.С., Быстрова О.В. и др. Эффективность и исходы программ криоконсервацией эмбрионов в протоколах вспомогательных репродуктивных технологий. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2014;6(4):39–46. <https://doi.org/10.17816/JOWD63439-46>.

73. Краснопольская К.В., Сесина Н.И., Бадалян Г.В. и др. Медленное замораживание и витрификация эмбрионов. Сравнение эффективности. *Проблемы репродукции*. 2015;21(1):48–53. https://doi.org/10.26442/2079-5696_2018.5.59-62.
74. Пурге А.Р. Криоконсервация эмбрионов: к вопросу о понятии. *Юридические исследования*. 2022;9:1–9. <https://doi.org/10.25136/2409-7136.2022.9.38707>.

References:

1. Zegers-Hochschild F., Adamson G.D., de Mouzon J. et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Hum Reprod*. 2009;24(11):2683–7. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep343>.
2. Bártolo A., Reis S., Monteiro S. et al. Psychological adjustment of infertile men undergoing fertility treatments: an association with sperm parameters. *Arch Psychiatr Nurs*. 2016;30(5):521–6. <https://doi.org/10.1016/j.apnu.2016.04.014>.
3. Tyuvina N.A., Nikolaevskaya A.O. Infertility and mental disorders in women. Communication 1. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika*. [Besplodie i psichicheskie rasstrojstva u zhenshch]. 2019;11(4):117–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2019-4-117-124>.
4. Beke A. Genetic causes of female infertility. *Exp Suppl*. 2019;111:367–83. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0942-0>.
5. Zhuraev I.I., Khaidarov O.L., Bobokulov N.A. Male infertility. [Muzhskoe besplodie]. *Proceedings of International Conference on Scientific Research in Natural and Social Sciences*. 2023;2(3):163–70. (In Russ.).
6. Tschudin S., Bitzer J. Psychological aspects of fertility preservation in men and women affected by cancer and other life-threatening diseases. *Hum Reprod Update*. 2009;15(5):587–97. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp016>.
7. Kenney L.B., Antal Z., Ginsberg J.P. et al. Improving male reproductive health after childhood, adolescent, and young adult cancer: progress and future directions for survivorship Research. *J Clin Oncol*. 2018;36(21):2160–8. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.76.3839>.
8. Dishuck C.F., Perchik J.D., Porter K.K. et al. Advanced imaging in female infertility. *Curr Urol Rep*. 2019;20(11):77. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0942-0>.
9. Bala R., Singh V., Rajender S. et al. Environment, lifestyle, and female infertility. *Reprod Sci*. 2021;28(3):617–38. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00279-3>.
10. Mustafa M., Sharifa A.M., Hadi J.E. et al. Male and female infertility: causes, and management. *IOSR J Dent Med Sci*. 2019;18(9):27–32. <https://doi.org/10.9790/0853-1809132732>.

11. Aripova T.U., Musakhodzhaeva D.A., Fayzullaeva N.Ya., Yarmukhamedov A.S. Various aspects of male infertility (literature review). [Razlichnye aspekty besplodiya u muzhchin (obzor literatury)]. *Zhurnal teoreticheskoy i klinicheskoy mediciny*. 2020;(4):141–5. (In Russ.).
12. Galimov Sh.N., Bozhedomov V.A., Galimova E.F. et al. Male infertility: molecular and immunological aspects: monography. [Muzhskoe besplodie: molekulyarnye i immunologicheskie aspekty]. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2020. 204 p. (In Russ.).
13. Kirakosyan E.V., Nazarenko T.A., Pavlovich S.V. Search for the causes of reproductive system disorders: a research review. [Poisk prichin formirovaniya narushenij reproduktivnoj sistemy: obzor nauchnyh issledovanij]. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2021;(11):18–25. <https://doi.org/10.18565/aig.2021.11.18-25>. (In Russ.).
14. No C.O. Female age-related fertility decline. *Fertil Steril*. 2014;101(3):633–4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.032>.
15. Songolova E.N. Control of IVF accounting under compulsory medical insurance. [Kontrol' ucheta EKO po OMS. Materialy Vtorogo s"ezda medicinskih statistikov Moskvy «Statistika zdavoohraneniya novogo vremeni»]. *Moscow*, 2020. 84–6. (In Russ.).
16. Sidorova T.F. Philosophical analysis of procreation in the value dimension. *Population and Economics*. 2020;4(4):57–66. <https://doi.org/10.3897/popecon.4.e58271>.
17. Shevlyuk N.N. Fundamentals, biological, medical and social aspects of assisted reproductive technologies: history of creation, current state, prospects. [Fundamental'nye osnovy, biologicheskie, medicinskie i social'nye aspekty vspomogatel'nyh reproduktivnyh tekhnologij: istoriya sozdaniya, sovremennoe sostoyanie i perspektivy]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2024;13(2):100–9. (In Russ.). <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-100-109>.
18. Walters E.M., Benson J.D., Woods E.J. et al. The history of sperm cryopreservation. In: *Spermbanking: Theory and practice*. *Cambridge University Press*, 2009. 1–10.
19. Castellani C. Spermatozoan biology from Leeuwenhoek to Spallanzani. *J Hist Biol*. 1973;6:37–68. <https://doi.org/10.1007/BF00137298>.
20. Lovelock J.E. The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. *Biochim Biophys Acta*. 1953;10(3):414–26. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(53\)90273-X](https://doi.org/10.1016/0006-3002(53)90273-X).
21. Jang T.H., Park S.C., Yang J.H. et al. Cryopreservation and its clinical applications. *Integr Med Res*. 2017;6(1):12–8. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.12.001>.
22. Shenfield F., de Mouzon J., Scaravelli G. et al. ESHRE Working Group on Oocyte Cryopreservation in Europe. Oocyte and ovarian tissue cryopreservation in European countries: statutory background, practice, storage and use. *Hum Reprod Open*. 2020;2020:hoaa016. <https://doi.org/10.1093/hropen/hox003>.

23. Calhaz-Jorge C., de Geyter C., Kupka, M.S. et al. European IVF-Monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2016;31(2):233–48. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex264>.
24. Odintsova I.A., Rusakova S.E., Schmidt A.A., Timoshkova Yu.L. Cryopreservation of gametes: history and current state of a question. [Kriokonservatsiya polovykh kletok: istoriya i sovremennoe sostoyanie voprosa]. *Geny i kletki.* 2021;16(3):44–51 (In Russ.). <https://doi.org/10.23868/202110005>.
25. Öztürk A.E., Bucak M.N., Bodu M. et al. Cryobiology and cryopreservation of sperm. In: Cryopreservation – Current Advances and Evaluations. Ed. M. Quain. *IntechOpen*, 2019. 1–52 <https://doi.org/10.5772/intechopen.89789>.
26. AbdelHafez F., Bedaiwy M., El-Nashar S.A. et al. Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2009;15(2):153–64. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn061>.
27. Di Santo M., Tarozzi N., Nadalini M, Borini A. Human sperm cryopreservation: update on techniques, effect on DNA integrity, and implications for ART. *Adv Urol.* 2012;2012:854837. <https://doi.org/10.1155/2012/854837>.
28. Rios A.P., Botella I.M. Description and outcomes of current clinical techniques for sperm cryopreservation. *EMJ Reprod Health.* 2019;7(1):79–92. <https://doi.org/10.33590/emjreprohealth/10310343>.
29. Liu S., Li F. Cryopreservation of single-sperm: where are we today? *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):41. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00600-5>.
30. Just A., Gruber I., Wöber M. et al. Novel method for the cryopreservation of testicular sperm and ejaculated spermatozoa from patients with severe oligospermia: a pilot study. *Fertil Steril.* 2004;82(2):445–7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.12.050>.
31. Tomita K., Sakai S., Khanmohammadi M. et al. Cryopreservation of a small number of human sperm using enzymatically fabricated, hollow hyaluronan microcapsules handled by conventional ICSI procedures. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(4):501–11. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0656-x>.
32. Glander H.J., Schaller J. Hidden effects of cryopreservation on quality of human spermatozoa. *Cell Tissue Bank.* 2000;1(2):133–42. <https://doi.org/10.1023/A:1010122800157>.
33. Isachenko V., Isachenko E., Katkov I.I. et al. Cryoprotectant-free cryopreservation of human spermatozoa by vitrification and freezing in vapor: effect on motility, DNA integrity, and fertilization ability. *Biol Reprod.* 2004;71(4):1167–73. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.028811>.

34. Maheshwari A., Bhattacharya S. Elective frozen replacement cycles for all: ready for prime time? *Hum Reprod.* 2013;28(1):6–9. <https://doi.org/10.1093/humrep/des386>.
35. Cohen J., Alikani M. The time has come to radically rethink assisted reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2013;27(4):323–4. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.08.001>.
36. Bosch E., De Vos M., Humaidan P. The future of cryopreservation in assisted reproductive technologies. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:67. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00067>.
37. McLaughlin M., Albertini D.F., Wallace W.H.B. et al. Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system. *Mol Hum Reprod.* 2018;24(3):135–42. <https://doi.org/10.1093/molehr/gay002>.
38. Gook D.A., Edgar D.H. Cryopreservation of female reproductive potential. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019;55:23–36. <https://doi.org/10.18565/aig.2020.4.195-200>.
39. Hussein R.S., Khan Z., Zhao Y. Fertility preservation in women: indications and options for therapy. *Mayo Clin Proc.* 2020;95(4):770–83. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.10.009>.
40. Rivas Leonel E.C., Lucci C.M., Amorim C.A. Cryopreservation of human ovarian tissue: a review. *Transfus Med Hemother.* 2019;46(3):173–81. <https://doi.org/10.1159/000499054>.
41. Taylor M.J., Weegman B.P., Baicu S.C. et al. New approaches to cryopreservation of cells, tissues, and organs. *Transfus Med Hemother.* 2019;46(3):197–215. <https://doi.org/10.1159/000499453>.
42. Pegg D.E. The history and principles of cryopreservation. *Semin Reprod Med.* 2002;20(1):5–13. <https://doi.org/10.1055/s-2002-23515>.
43. Torquato P., Giusepponi D., Bartolini D. et al. Pre-analytical monitoring and protection of oxidizable lipids in human plasma (vitamin E and ω -3 and ω -6 fatty acids): an update for redox-lipidomics methods. *Free Radic Biol Med.* 2021;176:142–8. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.09.012>.
44. Pegg D.E. Principles of cryopreservation. *Methods Mol Biol.* 2007;368:39–57. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2_3.
45. Cobo A., García-Velasco J. A., Coello A. et al. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril.* 2016;105(3):755–64. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.027>.
46. Ferraretti A.P., Gianaroli L., Magli C. et al. Elective cryopreservation of all pronucleate embryos in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome: efficiency and safety. *Hum Reprod.* 1999;14(6):1457–60. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.6.1457>.
47. Shapiro B.S., Daneshmand S.T., Garner F.C. et al. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh

and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril*. 2011;96(2):344–8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.05.050>.

48. Aghahosseini M., Aleyasin A., Sarfjoo F.S. et al. In vitro fertilization outcome in frozen versus fresh embryo transfer in women with elevated progesterone level on the day of HCG injection: an RCT. *Int J Reprod Biomed*. 2017;15(12):757–62.

49. Alteri A., Pisaturo V., Somigliana E. et al. Cryopreservation in reproductive medicine during the COVID-19 pandemic: rethinking policies and European safety regulations. *Hum Reprod*. 2020;35(12):2650–7. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa210>.

50. Christianson M.S., Stern J.E., Sun F. et al. Embryo cryopreservation and utilization in the United States from 2004-2013. *F S Rep*. 2020;1(2):71–7. <https://doi.org/10.1016/j.xfre.2020.05.010>.

51. Ladeira C., Koppen G., Scavone F. et al. The comet assay for human biomonitoring: eEffect of cryopreservation on DNA damage in different blood cell preparations. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2019;843:11–7. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.02.002>.

52. Guerif F., Bidault R., Cadoret V. et al. Parameters guiding selection of best embryos for transfer after cryopreservation: a reappraisal. *Hum Reprod*. 2002;17(5):1321–6. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.5.1321>.

53. Yakubets Yu.A., Deshko A.S., Golubets L.V. et al. Efficiency of cryopreservation of embryos obtained in vitro culture. [Effektivnost' kriokonservacii embrionov, poluchennyh v kul'ture in vitro]. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*. 2020;(3):169–75. (In Russ.).

54. Rienzi L.F., Iussig B., Doveire L. et al. Perspectives in gamete and embryo cryopreservation. *Semin Reprod Med*. 2018;36(5):253–64. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1677463>.

55. Telfer E.E. Future developments: In vitro growth (IVG) of human ovarian follicles. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(5):653–8. <https://doi.org/10.1111/aogs.13592>.

56. Anderson R.A., Baird D.T. The development of ovarian tissue cryopreservation in Edinburgh: translation from a rodent model through validation in a large mammal and then into clinical practice. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(5):545–9. <https://doi.org/10.1111/aogs.13560>.

57. Hong B., Hao Y. The outcome of human mosaic aneuploid blastocysts after intrauterine transfer: a retrospective study. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(9):e18768. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018768>.

58. Gleicher N., Orvieto R.J. Is the hypothesis of preimplantation genetic screening (PGS) still supportable? A review. *J Ovarian Res*. 2017;10(1):21. <https://doi.org/10.1186/s13048-017-0318-3>.

59. Whaley D., Damyar K., Witek R.P. et al. Cryopreservation: an overview of principles and cell-specific considerations. *Cell Transplant*. 2021;30:963689721999617. <https://doi.org/10.1177/0963689721999617>.

60. Raju R., Bryant S.J., Wilkinson B.L. et al. The need for novel cryoprotectants and cryopreservation protocols: Insights into the importance of biophysical investigation and cell permeability. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2021;1865(1):129749. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129749>.
61. Bojic S., Murray A., Bentley B.L. et al. Winter is coming: the future of cryopreservation. *BMC Biol.* 2021;19(1):56. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-00976-8>.
62. Erol O.D., Pervin B., Seker M.E. et al. Effects of storage media, supplements and cryopreservation methods on quality of stem cells. *World J Stem Cells.* 2021;13(9):1197–214. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i9.1197>.
63. Crisol M., Wu K., Laouar L. et al. Antioxidant additives reduce reactive oxygen species production in articular cartilage during exposure to cryoprotective agents. *Cryobiology.* 2020;96:114–21. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.07.008>.
64. Manchester L.C., Coto-Montes A., Boga J.A. et al. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res.* 2015;59(4):403–19. <https://doi.org/10.1111/jpi.12267>.
65. Marcantonini G., Bartolini D., Zatini L. et al. Natural cryoprotective and cytoprotective agents in cryopreservation: a focus on melatonin. *Molecules.* 2022;27(10):3254. <https://doi.org/10.3390/molecules27103254>.
66. Len J.S., Koh W.S.D., Tan S.X. The roles of reactive oxygen species and antioxidants in cryopreservation. *Biosci Rep.* 2019;39(8):BSR20191601. <https://doi.org/10.1042/BSR20191601>.
67. Trounson A., Wood C., Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril.* 1994;62(2):353–62. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)56891-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)56891-5).
68. Polyakova M.V. Cryopreservation of spermatogonial stem cells: possibilities of clinical application for fertility preservation in prepubertal patients. [Kriokonservaciya spermatogonial'nyh stvolovyh kletok: vozmozhnosti klinicheskogo primeneniya dlya sohraneniya fertil'nosti u pacientov predpubertatnogo vozrasta]. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy.* 2017;5(3):33–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.33>.
69. Belova D.A. Actual problems of cryopreservation and storage of human reproductive biomaterial. [Aktual'nye problemy kriokonservacii i hraneniya reproduktivnogo biomateriala cheloveka]. *Lex Genetica.* 2024;3(3):26–43. (In Russ.). <https://doi.org/10.17803/lexgen-2024-3-3-26-43>.
70. Schulz M., Risopatrón J., Uribe P. et al. Human sperm vitrification: a scientific report. *Andrology.* 2020;8(6):1642–50. <https://doi.org/10.1111/andr.12847>.

71. Shah D., Rasappan, Shila, Gunasekaran K. A simple method of human sperm vitrification. *MethodsX*. 2019;6:2198–204. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.09.022>.
72. Kravchuk Ya.N., Kalugina A.S., Bystrova O.V. et al. Efficiency and outcomes of programs with embryo cryopreservation in assisted reproductive technology protocols. [Effektivnost' i iskhody programm ckriokonservatsiej embrionov v protokolah vspomogatel'nyh reproduktivnyh tekhnologij]. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej*. 2014;6(4):39–46 (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/JOWD63439-46>.
73. Krasnopolskaya K.V., Sesina N.I., Badalyan G.V. et al. Slow freezing and vitrification of embryos. Comparison of efficiency. [Medlennoe zamorazhivanie i vitrifikatsiya embrionov. Sravnenie effektivnosti]. *Problemy reprodukcii*. 2015;21(1):48–53 (In Russ.). https://doi.org/10.26442/2079-5696_2018.5.59-62.
74. Purge A.R. Cryopreservation of embryos: on the issue of the concept. [Kriokonservatsiya embrionov: k voprosu o ponyatii]. *Yuridicheskie issledovaniya*. 2022;9:1–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.25136/2409-7136.2022.9.38707>.

Сведения об авторах / About the authors:

Абдулазимова Иман Руслановна / Iman R. Abdulazimova. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4291-2012>.

Межидова Лейла Лечаевна / Leyla L. Mezhidova. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8094-385X>.

Баркинхоева Раббия Салимхановна / Rabbiya S. Barkinkhoeva. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1257-5238>.

Зариева Зейнап Умаровна / Zeinap U. Zarieva. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9499-0146>.

Абадиева Зухра Хамзатовна / Zukhra Kh. Abadieva. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-5344-0823>

Магамадова Хава Руслановна / Khava R. Magamadova. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2101-5599>.

Вазикаева Амина Лечаевна / Amina L. Vazikaeva. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-6455-0994>.

Бжекшиева Алия Аббровна / Aliya A. Bzhekhshieva. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-7335-5661>.

Богатырёва Дисана Аскеровна / Disana A. Bogatyreva. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-6653-629X>.

Кауц Эльза Андреевна / Elza A. Kauts. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-2112-6822>.

Баянова Марита Аслановна / Marita A. Bayanova. E-mail: baranovamarita@gmail.com.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5377-9833>.

Умарова Хадишат Умаровна / Khadishat U. Umarova. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-1946-2714>.

Сатыев Хусейн Ахъядович / Khusein A. Satuev. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-8773-6226>.

Касем Мохаммед Абдо Фархан / Mohammed A.F. Qasem. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-9811-429X>.