

# Voortplanting met behulp van gevitricieerde oöcyten

Annemieke A. de Melker, Harold R. Verhoeve, Mariëtte Goddijn, Fulco van der Veen en Sjoerd Repping

- Invriezen van zaadcellen en embryo's is sinds tientallen jaren een standaardprocedure in Nederlandse fertiliteitslaboratoria.
- Oöcyten werden tot voor kort niet ingevroren, wegens de geringe kans op overleving.
- Een nieuwe en veelbelovende techniek voor het invriezen van oöcyten is 'vitrificatie'.
- Deze ultrasnelle manier van invriezen kan onder andere worden toegepast wanneer bij in-vitrofertilisatie (ivf) of intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI) geen of onbruikbare zaadcellen worden gevonden, en bij patiënten met kanker, die een voor de ovaria potentieel schadelijke oncologische behandeling moeten ondergaan.
- Het Academisch Medisch Centrum in Amsterdam heeft van maart 2006 tot oktober 2009 van 20 patiënten oöcyten gevitricieerd.
- Tien van de 20 patiënten hebben een ICSI-behandeling ondergaan; dit resulteerde in 3 zwangerschappen, waarbij uit 2 zwangerschappen 2 gezonde kinderen zijn geboren.

Het invriezen van zaadcellen is een standaardtechniek die de mogelijkheid openhoudt tot het voortbrengen van genetisch eigen nageslacht, bijvoorbeeld voordat een gonadotoxische behandeling plaatsvindt. Dit geldt ook voor het invriezen van embryo's, die overblijven na een in-vitrofertilisatie(ivf)-behandeling. Het invriezen van oöcyten was tot voor kort inefficiënt vanwege (a) membraanbeschadigingen die ontstaan door intracellulaire ijskristalformatie, (b) irreversibele veranderingen van intracellulaire structuren en (c) het verharden van de zona pellucida.<sup>1</sup>

In Nederland is het invriezen van oöcyten zelden of nooit toegepast. In het buitenland is de ontwikkeling van invriestechnieken de afgelopen jaren in snel tempo doorgegaan, mede vanwege de grote behoefte om oöcyten te kunnen invriezen. Deze behoefte hangt samen met de restrictieve wetgeving in sommige landen op het gebied van embryopreservatie. Een doorbraak was de toepassing van een nieuwe invriestechniek genaamd 'vitrificatie'. Om beschadigingen die ontstaan door intracellulaire ijskristalformatie te voorkomen, wordt hierbij gebruik gemaakt van hoge concentraties cryoprotectanten en ultrakorte invriestijden.<sup>2</sup> Inmiddels zijn er wereldwijd meer dan 900 baby's geboren, zowel na conventioneel invriezen ('slow freezing'), als na vitrificatie van oöcyten.<sup>3</sup>

In 2006 is in Amsterdam het Academisch Medisch Centrum (AMC) gestart oöcytvitrificatie toe te passen voor een kleine, specifieke groep patiënten, namelijk patiënten bij wie tijdens ivf of intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI) geen zaadcellen konden worden verkregen. In 2009 is hier ook mee gestart bij patiënten die een gonadotoxische behandeling moesten ondergaan.

Academisch Medisch Centrum, Amsterdam,  
Centrum voor Voortplantingsgeneeskunde.

Dr. A. A. de Melker, klinisch embryoloog;

dr. M. Goddijn, gynaecoloog;

prof.dr. F. van der Veen, gynaecoloog;

prof.dr. S. Repping, klinisch embryoloog.

Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam,

afd. Gynaecologie.

Drs. H. R. Verhoeve, gynaecoloog.

Contactpersoon: prof.dr. S. Repping

(s.repping@amc.uva.nl).

## UITLEG

**Syndroom van Turner** Het syndroom van Turner ontstaat door complete of partiële afwezigheid van een X-chromosoom. Secundaire amenorroe of infertiliteit op volwassen leeftijd behoren tot de klinische manifestaties van het syndroom. Bij de mozaïek-variant bezitten niet alle cellen in het lichaam hetzelfde karyotype en over het algemeen is deze variant minder ernstig aangedaan.

In dit artikel beschrijven wij de eerste ervaringen met oöcytvitrificatie in Nederland en gaan we in op de techniek en haar indicaties en de resultaten wereldwijd.

## EERSTE ERVARINGEN

### PATIËNTEN EN METHODEN

In de periode 22 maart 2006 - 30 oktober 2009 werd in het AMC bij 20 vrouwen oöcytvitrificatie toegepast. Het betrof zowel patiënten uit het AMC (n = 18) als uit het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam (n = 2). Alle patiënten werden mondeling voorgelicht over het feit dat dit een nieuwe techniek is, die in Nederland voor het eerst werd toegepast. Ook werd besproken dat de groei en ontwikkeling van de kinderen gevolgd zouden worden, omdat de risico's van eicelvitricatie onvoldoende bekend zijn. Alle patiënten gaven hiervoor mondeling informed consent.

Patiënten ondergingen ovariële hyperstimulatie volgens een lang protocol, waarbij midluteaal werd gestart met dagelijkse toediening van een gonadotrofine-'releasing'-hormoon (GnRH)-agonist, namelijk triptoreline (Decapeptyl, Ferring bv). Nadat desensitisatie van de hypofyse was bereikt, werden de ovaria gestimuleerd met behulp van recombinant follikelstimulerend hormoon (recFSH), namelijk follitropine (Puregon, Organon Nederland bv). Ovulatie-inductie vond plaats middels toediening van 10.000 IU humaan choriongonadotrofine (HCG) (Pregnyl, Organon Nederland bv). 36 h nadien vond echoscopisch geleide follikelaspiratie plaats.

Na isolatie in het laboratorium werden de oöcyten werden tot het moment van vitrificatie overgebracht in 'human tubal fluid' (HTF)-medium (Lonza Verviers Sprl. België). Cumuluscellen (granulosacellen die de follikels omringen, nadat deze door punctie verkregen zijn) werden verwijderd met behulp van hyaluronzuur (Hyason, Organon Nederland BV). Alleen rijpe oöcyten, die zich in metafase II bevonden, werden gevitriciceerd. Geplande vitrificatie (bij patiënten die de techniek om oncologische redenen ondergingen) vond 2-4 h na follikelaspiratie plaats en acute vitrificatie (toegepast in het geval van onvoorziene afwezigheid of onbruikbaarheid van zaadcellen) 5-8 h na follikelaspiratie..

Oöcyten werden gevitriciceerd en ontdooid volgens de cryotop-methode (Kitazato BioPharma CO., Ltd., Japan) (figuur 1) en bevrucht via ICSI.<sup>1,2,4</sup>

De 1 of 2 embryo's die morfologisch als beste werden beschouwd, werden 3 dagen na bevruchting intra-uterien geplaatst in een hormonaal ondersteunde artificiële cyclus (n = 18) of een natuurlijke cyclus (n = 2). Bij de artificiële cyclus werden estradiol (Progynova, Bayer bv) en progesteron (Utrogestan, Besins International) voorgeschreven. Bij de natuurlijke cyclus werd bij een follikelgrootte van 18 mm 10.000 IU HCG (Pregnyl, Organon Nederland bv) toegediend om een ovulatie op te wekken. Zwangerschap werd vastgesteld door het meten van de serumconcentratie  $\beta$ -HCG op dag 14 na plaatsing. Een doorgaande zwangerschap werd gedefinieerd als een vitale intra-uteriene graviditeit met een amenorroeduur van 12 weken. De kinderen werden vlak na de geboorte door een kinderarts onderzocht, en op 1-jarige leeftijd werd een telefonische enquête over de gezondheid van de kinderen afgenomen.

### RESULTATEN

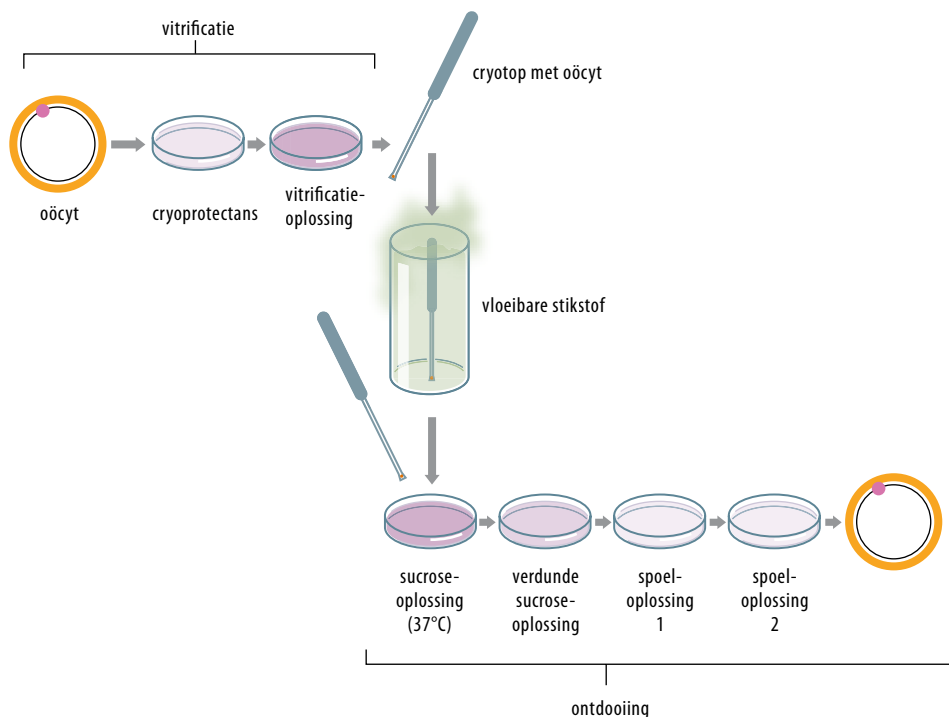
Bij 20 patiënten werd oöcytvitrificatie toegepast (tabel 1).

De indicatie was bij 15 patiënten de onverwachte afwezigheid van zaadcellen; er zaten geen zaadcellen in het ejaculaat, of de man was op de dag van follikelaspiratie ten behoeve van ivf of ICSI, niet in staat sperma te produceren. Bij 2 patiënten werd op de dag van de punctie een infectie geconstateerd in het semen. Zonder vitrificatie zouden deze oöcyten verloren gaan voor behandeling.

Verder werden er sinds juli 2009 bij 3 patiënten om oncologische redenen oöcyten gevitriciceerd; bij 2 vrouwen omdat zij chemotherapie moesten ondergaan in verband met een oestrogenreceptor-negatief mammacarcinoom en bij 1 vrouw omdat zij draagster was van het *BRCA1*-gen, en de ovaria preventief verwijderd zouden worden. In totaal werden 21 stimulatiecycli uitgevoerd. Van de 203 gevonden oöcyten waren er 157 rijp, welke alle werden gevitriciceerd (tabel 2).

Tot het moment van beschrijven van de eerste resultaten, werden van 10 van de 20 patiënten de oöcyten ontdooid om ICSI te ondergaan (tabel 3).

De indicatie voor oöcytvitrificatie bij al deze patiënten was de afwezigheid van zaadcellen ten tijde van de follikelaspiratie. De gemiddelde leeftijd van de patiënten bedroeg 36,7 jaar (uitersten: 30,2-42,7). Er werden 66 oöcyten ontdooid, waarvan er 65 werden teruggevonden. De 44 oöcyten die het vitrificeren en het ontdooidproces overleefd hadden, werden geïnjecteerd met een zaadcel en daarvan raakten er 33 bevrucht. Van de 20 geplaatste embryo's implanteerden er 3, waarvan 2 hartactie vertoonden na 6 weken. Drie vrouwen raakten zwanger,



**FIGUUR** Vitrificatie en ontdooing van een oöcyt door middel van de cryotop-methode: na follikelaspiratie wordt de oöcyt geëquilibreerd in een oplossing met cryoprotectans; vervolgens wordt de oöcyt kort geïncubeerd in een vitrificatie-oplossing en overgebracht in een zeer klein volume op een zogenaamde cryotop: een drager waarop de oöcyt kan worden bewaard; de cryotop wordt ondergedompeld in vloeibare stikstof en bewaard tot nader

gebruik; voor weer opwarmen van de oöcyt wordt de cryotop zo snel mogelijk vanuit de vloeibare stikstof ondergedompeld in een sucrose-oplossing van 37°C; hierna wordt de oöcyt overgebracht in een verdunde sucrose-oplossing en na enkele minuten overgebracht in een spoeloplossing; na 5 min wordt de oöcyt kort gewassen in een tweede volume van spoeloplossing en overgebracht in de uiteindelijke kweekdruppel.

waarvan 1 echter alleen biochemisch: een serumconcentratie  $\beta$ -HCG van 18 (maximale waarde).

De eerste patiënte beviel, na een amenorroeduur van 39 5/7e weken, van een gezonde dochter met een geboortegewicht van 3520 g. De tweede patiënte beviel, na een amenorroeduur van 40 4/7e weken, van een gezonde zoon, na een sectio caesarea wegens foetale nood, met een geboortegewicht van 2710 g. Beide kinderen werden post partum door een kinderarts onderzocht. Er waren

geen congenitale afwijkingen. Beide kinderen vertoonden na 3 maanden en na 1 jaar een ongestoorde ontwikkeling, groei, visus en gehoor en er waren geen andere lichamelijke of psychische afwijkingen.

**EFFICIËNTIE VAN DE METHODE**

In het hier beschreven cohort van gevitrificeerde oöcyten werd een overlevingspercentage na ontdooien van 67% (44/66) bereikt. Het bevruchtigingspercentage was 75% (33/44). Van de 10 hier beschreven patiënten die een embryoplaatsing ondergingen, werden er 3 zwanger, waarbij uit 2 zwangerschappen 2 levende kinderen ter wereld werden gebracht.

Een analyse uit 2008 van de resultaten van 11 klinieken uit 6 verschillende landen, die allemaal de cryotop-methode toepasten, toonde een overlevingspercentage van 88%, na ontdooien van 9350 gevitrificeerde oöcyten, en een bevruchtigingspercentage van 81,4%.<sup>5</sup> Er ontstonden 619 zwangerschappen, uit een totaal van 1589 embryoplaatsingen (39%), waarvan 360 patiënten waren bevallen (23%).

**TABEL 1** Indicaties voor oöcytvitrificatie bij 20 vrouwen (Academisch Medisch Centrum, 2006-2009)

indicatie	patiënten (n)
zaadcellen niet beschikbaar op het moment van ivf/ICSI	15
infectie in semen	2
oncologische behandeling vrouw	3

ICSI = intracytoplasmatische sperma-injectie.

**TABEL 2** Aantal cycli met vitrificatie van oöcyten bij 20 vrouwen (Academisch Medisch Centrum, 2006-2009)

	aantal (n)
cycli	21
oöcyten	
gevonden	203
gevitriciseerd	157

Onze uitkomsten lagen wat lager. Dit zou kunnen komen door het lange tijdsinterval tussen het moment van follicelaspiratie en het invriezen van de oöcyten. Uit een retrospectief onderzoek bleek dat bevruchting van oöcyten die door middel van slow freezing < 2 h na follicelaspiratie waren ingevroren, tot een betere embryokwaliteit en klinische uitkomst leidde, dan van oöcyten ingevroren na > 2 h.<sup>12</sup> In het AMC zijn voornamelijk alleen ontdooicycli geweest van oöcyten die tussen 5-8 h na de follicelaspiratie gecryopreserveerd werden, omdat eerst langdurig werd gewacht op sperma of werd gezocht naar bewegelijke zaadcellen.

De groeisnelheid en kwaliteit van embryo's die ontstaan uit gevitriciseerde oöcyten zijn vergelijkbaar met die van embryo's ontstaan uit verse oöcyten. Dit bleek uit een studie met donoroöcyten, waarbij een deel van de oöcyten bevrucht werd na vitrificatie en een ander deel 'vers' werd bevrucht.<sup>6</sup> Uit een onderzoek met 251 ivf-cycli met verse oöcyten en 120 cycli met gevitriciseerde oöcyten, bleken er per embryo geen significante verschillen te bestaan in de percentages van delende embryo's, klinische zwangerschappen en implantatieratio's.<sup>7</sup>

## BESCHOUWING

### SLOW FREEZING OF VITRIFICATIE

Cryopreservatie van oöcyten was tot voor kort weinig effectief. De sterke temperatuurveranderingen, maar ook de inwerking van cryoprotectanten, kunnen leiden tot de vorming van ijskristallen met tot gevolg: (a) een veranderde membraansamenstelling, (b) verharding van de zona pellucida door vroegtijdige secretie van corticale granula (verantwoordelijk voor de zogenoemde 'corticale reactie': verharding van de zona pellucida na binnentreden van de zaadcel) en (c) depolarisatie van microtubuli, met als gevolg afbraak van het meiotische spoelfiguur. Ijskristalvorming kan verder leiden tot beschadigingen van membranen en intracellulaire structuren zoals het spoelfiguur en de chromosomen, waarvan de rangschikking verstoord kan raken.<sup>1</sup>

Door oöcyten ultrasnel in te vriezen, worden deze zo kort mogelijk aan cryoprotectanten blootgesteld en kan

ijskristalvorming worden voorkómen. Na vitrificatie herstelt het spoelfiguur van de oöcyt sneller dan na slow freezing. Om cellulair trauma zoveel mogelijk te beperken, lijkt vitrificatie dus de techniek bij uitstek.<sup>11</sup>

Inmiddels zijn > 20 cohortstudies gepubliceerd over de resultaten na slow freezing en 9 over resultaten na vitrificatie.<sup>3,8,9</sup> Uit een recente meta-analyse bleek het overlevingspercentage van oöcyten na slow freezing en vitrificatie respectievelijk 68% (uitersten 22-90) en 81% (uitersten 69-99) te bedragen en het bevruchttingspercentage respectievelijk 73% (uitersten 50-86) en 79% (uitersten 59-93) te zijn.<sup>3</sup>

Het percentage klinische zwangerschappen per embryoplaatsing na slow freezing is gemiddeld 20%, na vitrificatie > 35%.<sup>8,9</sup> Hoewel de spreiding in resultaten groot is lijken de uitkomsten na vitrificatie gemiddeld genomen gunstiger dan na slow freezing.<sup>10</sup> Er zijn echter geen gerandomiseerde studies waarin de 2 methoden met elkaar worden vergeleken voor wat betreft de uitkomstmaat 'levendgeboren kinderen'.

### KINDEREN

In 1986 werd het eerste kind geboren na toepassing van ivf met oöcyten die een proces van invriezen en ontdooien hadden doorstaan; momenteel zijn dit er wereldwijd meer dan 900.<sup>3,9,13</sup> Dit aantal zal de komende jaren waarschijnlijk snel toenemen doordat de vitrificatietechniek in steeds meer centra in de wereld op succesvolle wijze wordt toegepast.

Van de 924 kinderen die geboren werden na ICSI met ingevroren en ontdooide oöcyten, werden bij 12 kinderen afwijkingen gevonden: bij 6/532 (1,1%) na ICSI met oöcy-

**TABEL 3** Aantal ontdooicycli en zwangerschappen bij 20 vrouwen bij wie oöcyt-vitrificatie werd toegepast (Academisch Medisch Centrum, 2006-2009)

	aantal (n)
ontdooicycli	10
eicellen ontdood	66
eicellen gevonden	65
eicellen overleefd	44
eicellen bevrucht	33
embryo's teruggeplaatst	20
embryo's geïmplanteerd	3
embryo's ingevroren	0
cycli met embryoplaatsing	10
zwangeren	3
doorgaande zwangerschappen	2
levendgeboren kinderen	2
eenlingen	2
meerlingen	0

## LEERPUNTEN

ten waarbij slow freezing was toegepast en bij 6/392 (1,5%) na ICSI met oöcyten die ingevroren waren middels vitrificatie.<sup>3</sup> Van de gevonden afwijkingen waren er 4 licht, waaronder: een klompvoet (n = 3) en een hemangioom (n = 1), en 8 ernstig, namelijk: een ventrikelseptumdefect (n = 3), een open gehemelte (n = 1), het arnold-chiarisyndroom (n = 1), het rubinstein-taybisyndroom (n = 1), choanale atresie (n = 1) en galgangatresie (n = 1). Er werden geen epigenetische afwijkingen aangetroffen, zoals het beckwith-wiedemannsyndroom of het angelman-syndroom.

Van alle levendgeboren kinderen in de Verenigde Staten wordt bij ongeveer 3% een ernstige aangeboren afwijking aangetroffen. Hoewel de resultaten nog beperkt zijn, lijkt de frequentie van geboortefwijkingen bij kinderen geboren na ICSI met ingevroren en ontdooide oöcyten dus niet te verschillen van die bij kinderen geboren na natuurlijke conceptie.

In Nederland zijn nu 2 kinderen geboren na ICSI met gevitricificeerde oöcyten. Er is vanwege de leeftijd van de kinderen nog geen langetermijn-follow-up mogelijk. Na 1 jaar lijken de kinderen zich ongestoord ontwikkeld te hebben, zonder lichamelijke en psychische afwijkingen. De kinderen zullen op de leeftijd van 2 jaar nogmaals lichamelijk worden onderzocht, en bij de leeftijd van 4 jaar zal de follow-up afgesloten worden met het beantwoorden van een gevalideerde vragenlijst.

## INDICATIES

Invriezen van oöcyten biedt niet alleen uitkomst bij onverwachte afwezigheid van zaadcellen tijdens een ivf- of ICSI-behandeling. Het kan ook aangeboden worden aan patiënten die radio- of chemotherapie moeten ondergaan.<sup>14</sup> Momenteel wordt in Nederland voor deze indicatie ovariumweefsel ingevroren.<sup>15</sup> De keuze tussen het invriezen van ovariumweefsel of het invriezen van oöcyten hangt af van de aard van de oncologische behandeling, de tijd die beschikbaar is voor het begin van de radio- of chemotherapie, de voorkeur en de leeftijd van de vrouw, en het risico op mogelijke contaminatie van ovariumweefsel met kankercellen.

Ook bij vrouwen met een onderliggende aandoening waarbij te verwachten is dat de fertiliteit op jonge leeftijd afneemt, zoals het fragile-X-syndroom (prematuur ovarieel falen) of de mozaïek-variant van het syndroom van Turner (zie uitlegkader), biedt cryopreservatie van oöcyten de mogelijkheid om de kans op zwangerschap met eigen oöcyten te vergroten. Hetzelfde geldt voor gezonde, jonge vrouwen die een kinderwens hebben, maar die nog niet kunnen vervullen, bijvoorbeeld omdat zij geen partner hebben. Cryopreservatie van oöcyten biedt deze

- **Vitrificatie is een techniek waarmee oöcyten ultrasnel kunnen worden ingevroren, waarbij celschade door ijskristalvorming wordt voorkómen.**
- **Wereldwijd zijn er > 900 kinderen geboren na toepassing van intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI) met ingevroren en ontdooide oöcyten.**
- **Kinderen geboren na toepassing van ICSI met ingevroren en ontdooide oöcyten zijn even gezond als kinderen geboren na natuurlijke conceptie.**
- **Het invriezen van oöcyten is een experimentele methode die in Nederland is toegestaan door de beroepsgroepen, waarbij follow-up van kinderen een voorwaarde is.**
- **In Nederland zijn na ICSI met gevitricificeerde oöcyten inmiddels 2 kinderen geboren.**

vrouwen de mogelijkheid om de kans op zwangerschap op latere leeftijd te vergroten, als spontaan zwanger worden niet meer lukt.<sup>16,17</sup>

Tenslotte schept cryopreservatie van oöcyten de mogelijkheid een donorbank op te bouwen, zoals dat al lange tijd gedaan wordt voor donorsperma.<sup>6,18</sup> Dit zou vrouwen kunnen helpen bij wie prematuur ovarieel falen is vastgesteld en die afhankelijk zijn geworden van oöcytdonatie.

## CONCLUSIE

Wereldwijd wordt vitrificatie van oöcyten voor vele indicaties in toenemende mate toegepast. In Nederland hebben de betrokken beroepsgroepen, de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG) en de Vereniging voor Klinische Embryologie (KLEM), in 2008 besloten om vitrificatie van oöcyten toe te staan, waarbij follow-up van kinderen die geboren worden na vitrificatie noodzakelijk is.<sup>19</sup>

Het AMC heeft inmiddels een onderzoeksvoorstel ingediend bij de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO) om de effectiviteit en veiligheid van oöcytvitrificatie nader te bestuderen. De in dit artikel beschreven resultaten zijn een eerste aanzet daartoe.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 17 april 2010

Citeer als: Ned Tijdschr Geneeskd. 2010;154:A1715

 [Meer op www.ntvg.nl/klinischepraktijk](http://www.ntvg.nl/klinischepraktijk)

## LITERATUUR

- 1 Gook DA, Edgar DH. Human oocyte cryopreservation. *Hum Reprod Update*. 2007;13:591-605.
- 2 Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology*. 2007;67:73-80.
- 3 Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:769-76.
- 4 Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2005;11:300-8.
- 5 Kuwayama M, Leibo SP. Efficiency of the cryotop method to cryopreserve human oocytes; analysis of in vitro and in vivo results at eleven IVF clinics. *American Society of Reproductive Medicine's 64th Annual Meeting, San Francisco*. 2008.
- 6 Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohi J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril*. 2008;89:1657-64.
- 7 Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, Antinori S. Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. *Reprod Biomed Online*. 2007;14:72-9.
- 8 Fadini R, Brambillasca F, Renzini MM, et al. Human oocyte cryopreservation: comparison between slow and ultrarapid methods. *Reprod Biomed Online*. 2009;19:171-80.
- 9 Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2006;86:70-80.
- 10 Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Essential elements of informed consent for elective oocyte cryopreservation: a Practice Committee opinion. *Fertil Steril*. 2008;90:S134-5.
- 11 Gardner DK, Sheehan CB, Rienzi L, Katz-Jaffe M, Larman MG. Analysis of oocyte physiology to improve cryopreservation procedures. *Theriogenology*. 2007;67:64-72.
- 12 Parmegiani L, Bertocci F, Garello C, Salvarani MC, Tambuscio G, Fabbri R. Efficiency of human oocyte slow freezing: results from five assisted reproduction centres. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:352-9.
- 13 Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*. 1986;327:884-6.
- 14 Porcu E, Bazzocchi A, Notarangelo L, Paradisi R, Landolfo C, Venturoli S. Human oocyte cryopreservation in infertility and oncology. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008;15:529-35.
- 15 Kwaliteitsinstituut voor de gezondheidszorg CBO. Richtlijn cryopreservatie van ovariumweefsel. Utrecht: Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie; 2007. p. 1-116.
- 16 Dondorp WJ, de Wert GM. Fertility preservation for healthy women: ethical aspects. *Hum Reprod*. 2009;24:1779-85.
- 17 Homburg R. van d, V, Silber SJ. Oocyte vitrification--women's emancipation set in stone. *Fertil Steril*. 2009;91:1319-20.
- 18 Cobo A, Domingo J, Perez S, Crespo J, Remohi J, Pellicer A. Vitrification: an effective new approach to oocyte banking and preserving fertility in cancer patients. *Clin Transl Oncol*. 2008;10:268-73.
- 19 Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie. Standpunt vitrificatie van humane oocyt en embryo's (1.0); 2008. NVOGnet voorlichting & richtlijnen: .