



OPEN ACCESS

Yardımcı Üreme Tekniklerinde Oosit Kriyoprezervasyonunun Günümüzdeki Yeri ve Kliniğimizde Uygulanan Oosit Dondurma Sikluslarının Değerlendirilmesi

Current Status of Oocyte Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies and Evaluation of Oocyte Freezing Cycles Performed in Our Clinic

Volkan Emirdar¹, Funda Göde¹, Volkan Karataşlı², Gülin Okay¹, İbrahim Pala³, Zerrin Sertkaya³

¹İzmir Ekonomi Üniversitesi Medicalpark Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmir, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmir, Türkiye

³İzmir Ekonomi Üniversitesi Medicalpark Hastanesi, İn Vitro Fertilizasyon Merkezi Embriyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

Atıf: Emirdar V, Göde F, Karataşlı F, Okay G, Pala İ, Sertkaya Z. Current Status of Oocyte Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies and Evaluation of Oocyte Freezing Cycles Performed in Our Clinic. J Tepecik Educ Res Hosp 2022;32(2):240-4

Öz

Amaç: Çeşitli endikasyonlar ile kliniğimizde uygulanan oosit dondurma hastaları ve sonuçlarının değerlendirilmesidir.

Yöntem: Bu retrospektif araştırmaya üçüncü basamak bir hastanenin tüp bebek merkezine 2015-2020 yılları arasında başvuran, gonadotoksik tedaviler öncesi fertilitate prezervasyonu uygulanan; düşük over rezervi saptanan evli olmayan kadın hastalar ve azospermi nedeniyle işlem günü eşlerinden sperm elde edilemeyen veya oosit sayısının az olması nedeniyle mikroenjeksiyon için oosit havuzlaması yapılan 18-48 yaş arası kadın hastaların oosit dondurma siklusları ve sonuçları değerlendirildi.

Bulgular: Farklı endikasyonlar ile başvuran 224 kadın hastanın yapılan kontrollü ovaryen stimülasyon sonrası oosit dondurma sikluslarından elde edilen verilere göre oosit canlılık oranı %92,68, çözme siklusu başına gebelik oranı %8,66, çözme siklusu başına canlı doğum oranı ise %4,66 olarak bulundu.

Sonuç: Klinik uygulamalarda yerini almış olan oosit kriyoprezervasyon sikluslarında dondurma-çözme sonrası oosit sağkalım oranları vitrifikasyon ile oldukça yüksek saptanmış olup; bu oositler ile elde edilen gebelik ve canlı doğum oranları, embriyo dondurma-çözme oranlarına yakın bulunmuştur. Vitrifikasyon tekniklerindeki gelişmeler ile yüksek canlılık ve başarı oranları yakalanan oosit dondurma-çözme uygulamalarının endikasyonlar dahilinde yardımcı üreme tekniklerinde daha güçlü bir yer alacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Düşük over rezervi, onkofertilite, oosit kriyoprezervasyonu

Abstract

Objective: Evaluation of oocyte cryopreservation cycles and results that we perform for various indications in our clinic.

Methods: The patients aged between 18-48 years and subjected oocyte cryopreservation for various indications between 2015 and 2020 in tertiary referral center hospital in vitro fertilization clinic were investigated in this retrospective study. The groups are established as single women for fertility preservation before gonadotoxic treatments, single women with diminished ovarian reserve, whose sperm could not be obtained on the day of oocyte retrieval or oocyte pooling due to microinjection application on the same day for the whole oocytes.



Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Volkan Emirdar, İzmir Ekonomi Üniversitesi Medicalpark Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmir, Türkiye
Tel.: +90 505 352 14 87 **E-posta:** volkanemirdar@yahoo.com
ORCID ID: orcid.org/0000-0003-4973-2563

Geliş tarihi/Received: 24.01.2021
Kabul tarihi/Accepted: 28.03.2021

Abstract

Results: According to the data obtained from oocyte freezing after controlled ovarian hyperstimulation cycles of 224 patients for various indications; oocyte survival rate was 92.68%, pregnancy rate was 8.66% and live birth rate was 4.66% per oocyte thaw cycle.

Conclusion: In oocyte cryopreservation cycles that have taken their place in clinical practice, oocyte survival rates after freeze-thaw were found quite high with vitrification method; pregnancy rates and live birth rates obtained with these oocytes were found similar to embryo freeze-thaw rates. By the developments in vitrification techniques, it is thought that oocyte freeze-thaw cycles which have high survival and success rates will have stronger place in the field of assisted reproductive treatments.

Keywords: Diminished ovarian reserve, oncofertility, oocyte cryopreservation

Giriş

1978 yılında Louise Brown'un doğumundan günümüze yardımcı üreme tekniklerindeki gelişmeler her geçen gün hızla artmaktadır. Günümüzde kriyoprezervasyon tekniklerindeki gelişmeler ile hastalara zaman, maliyet ve tıbbi süreçler gibi birçok alanda avantajlar sağlanmıştır. Özellikle çoklu embriyo transferi ve buna bağlı çoğul gebelikler önlenmiş, kriyoprezervasyon sayesinde tekrarlayan stimülasyon sikluslarının sayısı azalmıştır. Ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski olan durumlarda embriyo transferi ertelenerek OHSS klinik yönetim imkanı doğmuştur⁽¹⁾. Embriyo veya oosit kriyoprezervasyonu ile gonadotoksik tedaviler veya başka nedenlerle infertilite riski olan kadınlarda geleceğe fertilité yetisinin aktarılmasına olanak sağlanmıştır⁽²⁾. Yaşa bağlı infertilite veya düşük over rezervi gibi hayatın ilerleyen yıllarında oluşabilecek potansiyel infertilite riski olan kadınlarda oosit kriyoprezervasyonu ile reproduktif potansiyelin korunması imkanı doğmuştur⁽³⁾.

Vitrifikasyonun tanımlanmasıyla yavaş dondurma yönteminin neden olduğu hücre hasarının azaldığı gösterilmiş, başarı oranlarında artış izlenmiştir^(4,5). Mikroenjeksiyon yönteminin kullanımıyla dondurma-çözme işleminin neden olduğu zona sertleşmesine bağlı fertilizasyon güçlüğü aşılmış ve başarı oranlarında artış sağlanmıştır⁽⁶⁾. Tüm bu gelişmeler sonucunda Birleşik Krallık'ta 2000 yılında oosit dondurma işlemi uygulanmasına onay verilmiştir⁽⁷⁾. 2013 yılında Amerikan Üreme Tıbbı Derneği oosit dondurma uygulamasını deneysel statüden çıkarıp rutin uygulanabilir işlemler arasına girmesini sağlamıştır⁽⁸⁾. Bu gelişmeler sonrası da oosit dondurma yardımcı üreme tekniklerinin önemli bir parçası haline gelmiştir.

Kriyoprezervasyon hücre ve dokuların sıfırın altında derecelerde uzun süre saklanmasına olanak sağlayan kimyasal olaylar bileşkesidir. Önceki yıllarda yaygın olarak kullanılan "yavaş dondurma" ve günümüzde klinik pratiğimizde kullandığımız "vitrifikasyon" olmak üzere iki

farklı dondurma tekniği bulunmaktadır. Yavaş dondurma yöntemi ile önceki yıllarda başarılı sonuçlar elde edilmiş olsa da klinik uygulama güçlüğü ve taze oosit ile yapılan karşılaştırmalarda başarı oranlarının düşük olması nedeniyle kullanımı artık oldukça azalmıştır⁽⁹⁾. Daha yüksek konsantrasyonlarda kriyoprotektanların kullanıldığı, kristal formasyon riskinin azaldığı, çok hızlı ve pratik uygulanabilir vitrifikasyon yöntemi günümüzde yüksek başarı oranları ile klinik uygulamalarda yerini almıştır⁽¹⁰⁾. Vitrifikasyon ile ilk canlı doğum 1999'da Kuleshova ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından rapor edilmiş olup 2005 yılında Kuwayama ve ark.⁽¹²⁾ tarafından yaygın kullanımı olan "criyotop" vitrifikasyon metodu geliştirilmiştir.

Birçok in vitro fertilizasyon (IVF) programı günümüzde oosit kriyoprezervasyonunda vitrifikasyonun uygulanmasına geçmiş olup; Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün 2013 yılında güncellenen kılavuzlarında yeterli ekipman ve deneyim var ise embriyo veya oosit kriyoprezervasyonunda vitrifikasyon metodunun kullanılmasını önermektedir⁽¹³⁾.

Bizim çalışmamızda farklı endikasyonlar ile uygulanan oosit kriyoprezervasyon yönteminin günlük pratiğimizdeki yeri, hastaların dağılımı ve çözme sonrası sonuçlarımız değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem

Bu retrospektif araştırmaya üçüncü basamak bir hastanenin tüp bebek merkezine Haziran 2015 ile Haziran 2020 tarihleri arasında başvuran, gonadotoksik tedaviler öncesi fertilité prezervasyonu uygulanan; düşük over rezervi saptanan evli olmayan kadın hastalar, azospermi nedeniyle işlem günü eşlerinden sperm elde edilemeyen veya oosit sayısı az olduğu için oosit biriktirme sonrası mikroenjeksiyon yapılan 18-48 yaş arası 224 kadın hasta dahil edildi. Tüm hastaların ilk görüşmelerinde laboratuvar ve ultrasonografik detaylı değerlendirmesi yapıldı. Hastaların adet 3. günü folikül uyarıcı hormon (FSH) ve östradiol seviyeleri kaydedilerek

over rezervi değerlendirildi. Evli hastaların eşlerinin spermogramları istendi. Gonadotoksik tedaviler öncesi acil fertilité prezervasyonu hastalarına menstrüel sikludan bağımsız random start ovülasyon indüksiyonu başlanırken, diğer hasta gruplarında menstrüasyonun 2 veya 3. günü ovülasyon indüksiyonu başlandı. Başlangıç dozu olarak 150 IU rekombinant FSH ve/veya 150 IU ürofollitropin (yüksek saflıkta insan FSH) ile ovülasyon indüksiyonuna başlandı. İndüksiyonun 6. gününde transvajinal ultrason ve serum östrodiol seviyelerine göre gonadotropin dozları ayarlandı. Dominant folikül 13-14 mm boyutlarına ulaşınca prematür ovülasyonu önlemek amacıyla 0,25 mg/gün gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) antagonisti tedaviye eklendi. İki veya daha fazla dominant folikül çapı 18 mm'ye ulaşınca oosit matürasyonu için 250 mg rekombinant insan koryonik gonadotropini (hCG) subkütan uygulandı. Oosit sayısı 15 ve üzeri olgularda oosit matürasyonu sadece 0,2 mg GnRH agonisti ile sağlandı hCG enjeksiyonundan 35 saat sonra genel anestezi altında oosit toplama işlemi gerçekleştirildi.

Toplanan oositler 2 saat sonra rekombinant hyaluronidaz ile yıkanarak kümülüs-korona kompleksinden ayrıldı. Nükleer matürite değerlendirmesi sonrası sadece metafaz II oositler vitrifikasyon işlemine tabi tutuldu.

Vitrifikasyon işlemi Cryotop (Cryotop, Kitazato Dibimed company, Japan) vitrifikasyon kiti ile gerçekleştirildi.

Çözme siklusu için gelen hastaların vitrifiye oositleri yine cryotop çözme kiti ile çözüldü. Çözülen oositler çözme sorası 2. saatte canlılık açısından değerlendirildi. Oosit canlılık oranı, 2. saatin sonunda canlı kalan oosit sayısı çözülen oosit sayısına bölünerek hesaplandı. Sağlıklı oositler çözme günü eşlerden elde edilen ve işlemlerden geçirilen spermler ile mikroenjeksiyon işlemi ile döllendi. Fertilizasyon oranı, çözülen ve canlı kalan total matür metafaz II oosit enjeksiyonu başına elde edilen 2 pronükleus embriyo sayısı olarak tanımlandı. Spontan düşük gestasyonel kesenin görülmesinden sonra oluşan gebelik kaybı olarak değerlendirildi. Yirmi dört hafta sonrasında gerçekleşen doğumlar canlı doğum olarak sayıldı. Çalışma Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak dizayn edildi ve çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2020/1543 belge numarası ile etik kurul izni alınmıştır.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada verilerin değerlendirilmesi Statistical Package for the Social Sciences versiyon 10.0 ile değerlendirildi.

Katılımcıların tedavi öncesi ve sonrası verileri bağımsız örneklem t-testi ile karşılaştırıldı. Karşılaştırmada t-test ve oranları karşılaştırmada ki-kare testleri kullanıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Kliniğimize tüp bebek tedavisi için başvuran ve oosit dondurma endikasyonu alan 224 hastanın endikasyonlara göre dağılımı Tablo 1'de özetlenmiştir. Oosit kriyoprezervasyonu uygulanan 224 hastanın 74'üne (%33) çözme siklusu ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulandı.

Hastalara ait dondurma-çözme siklus verileri Tablo 2'de belirtilmiştir. Oosit dondurma uyguladığımız hastaların ortalama yaşı $37,1 \pm 5,86$ (20-48) olarak hesaplandı. Oosit dondurma siklusu uygulanan 224 hastanın 74'ünde embriyo elde etmek için çözme siklusu uygulandı. Dondurma sonrası çözme işlemine gelen hasta oranı %33 olarak hesaplandı. Dondurulan oositlerin çözülerek embriyo oluşturulması ve embriyo transferi için gelen hastaların ortalama yaşı $36,91 \pm 6,34$ 'tü. Çözme siklusunda hasta başına ortalama çözülen oosit sayısı $4,65 \pm 4,03$ olarak hesaplandı. Ortalama çözme siklusu başına canlı oosit eldesi $4,31 \pm 3,64$ iken çözme siklusu sonrası oosit canlılık oranı %92,68 olarak hesaplandı. Çözme siklusu yapılan 74 hastanın 67'sinde çözülen oositler ile fertilizasyon sağlandı. Yetmiş dört çözme siklusu sonrası intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu yapılan hastalarda elde edilen fertilizasyon oranı $54,29 \pm 35,60$ olarak hesaplandı.

Dondurma işlemi uygulanan hastaların 74'üne (%33) oosit çözme işlemi uygulandı. Çözme sonrası mikroenjeksiyon uygulanan oositlerden toplam 13 gebelik elde edildi. Oosit çözme siklus başına gebelik oranı %8,66 idi. Bu 13 gebeliğin 6'sı düşük ile sonuçlanırken, 7'si canlı doğum ile sonuçlandı. Bu sonuçlarla oosit çözme siklusu başına canlı doğum oranı %4,66 olarak bulundu. Tablo 3'te hastalara ait siklus verileri sunulmuştur.

Tartışma

Vitrifikasyon ve yavaş dondurma yönteminin karşılaştırıldığı çalışmalarda, fertilizasyon oranları, klinik gebelik oranları ve canlı doğum oranları vitrifikasyonda daha başarılı bulunmuş ve günümüz pratiğinde klinik uygulamadaki yerini almıştır⁽¹⁴⁾. Günümüzde neredeyse taze IVF siklus sonuçlarına yakın başarıyı yakalayan vitrifiye oosit sikluslarında oosit canlılık oranları vitrifikasyon-çözme sonrası %84 oranlarını yakalamıştır⁽¹⁵⁾. Bizim çalışmamızda da belirttiğimiz dondurma-çözme sonrası oosit canlılık oranlarımız %92,68 olup, kliniğimizin uygulamadaki tecrübe ve başarısı literatür

ile yakın olarak gözükmetedir. Her ne kadar oosit dondurma yaşına göre oranlar değişse de; 1999'da 100 dondurulmuş oosit ile 1 gebelik elde edilirken günümüzde 20 oosit ile 1 gebelik elde edilme oranları yakalanmış ve taze oosit ile yakın sonuçlara ulaşılmıştır⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Bizim çalışmamızda farklı endikasyonlar ile yapılan oosit kriyoprezervasyon sikluslarında ortalama hasta başına dondurulan oosit sayısı 4,50±4,29 olarak saptandı. Literatür ve oranlar ile ilgili bilgilendirme yapılmasına rağmen daha fazla oosit kriyoprezervasyonu siklusu yapılmasını hastalar ekonomik veya onkoloji tedavilerinin gecikmemesi gibi nedenlerle kabul etmedi. Cobo ve ark.⁽¹⁸⁾ tarafından 2016 yılında yayınlanan çalışmaya göre oosit canlılık oranları 35 yaş altında %94,6, 35 yaş üstünde %82,4 olarak saptanmış ve transfer başına klinik gebelik oranları 35 yaş altında %61,5, 35 yaş üstünde %39,8 olarak gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ortalama

hasta yaşı 37,1 iken oosit canlılık oranları %92,68 ve siklus başına gebelik oranı %8,66 olarak saptanmıştır. Farklı endikasyonlar ile oosit kriyoprezervasyonu uyguladığımız hastaların yaş ortalmalarının daha yüksek olması nedeniyle bizim sonuçlarımızda başarı oranının biraz daha düşük olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda dondurulan oositlerin ortalama saklama süresi 1 ile 6 yıl arasında, ortalama süre 2,56±1,47 olarak saptandı. Literatürde de dondurulmuş oosit veya embriyo saklama süresinin gebelik sonuçları üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı belirtilmektedir⁽¹⁹⁾.

Ayrılan çiftlerin embriyoları üzerindeki hakları ve sınırlamalar nedeniyle embriyo kriyoprezervasyonu bazı durumlarda uygun olmamaktadır. Bu gibi durumlarda oosit kriyoprezervasyonu uygun bir seçenek olabilmektedir⁽²⁰⁾.

Yardımcı üreme tekniklerinde devrim niteliğinde bir uygulama olan kriyoprezervasyon uygulaması hem hastaların, hem de klinisyenlerin elini günümüzde daha güçlü kılmaktadır. Hastaların özellikle eğitim ve kariyer hayatı nedeniyle çocuk sahibi olma yaşını ertelemeleri, yaşa bağlı infertilite açısından günümüzde artmış risk oluşturmaktadır. Bekar ve azalmış over rezervi olan kadınların gelecekte potansiyel infertilite sorunlarının önüne geçebilmeleri için oosit kriyoprezervasyonu büyük avantaj sağlamaktadır⁽²¹⁾. Bizim çalışmamıza dahil olan 45 kadın hasta da bu endikasyon ile fertilite yetilerini koruma altına almıştır.

Gonadotoksik tedaviler öncesi evli olmayan kadınlar için oosit kriyoprezervasyonu büyük avantaj sağlamak ve biyolojik anne olabilme şansını kaybetme riski ile karşı karşıya kalacak anne adaylarına bir umut olarak uygulanabilmektedir⁽²²⁾. Azalmış over rezervi nedeniyle siklus başına elde edilen oosit sayısı az olan kadınlarda tedavi maliyetinin önemli bir kısmını oluşturan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulamasının oosit havuzlaması sonrası tek bir seferde yapılması yine oosit kriyoprezervasyonu için uygulanan endikasyonlar arasındadır. Yine oosit toplama günü eşlerden sperm elde edilememesi oosit kriyoprezervasyonu ile toplanan oositleri kurtarma yöntemi olarak klinik uygulamadaki yerini almıştır⁽²³⁾. Bizim kliniğimizde de karşılaştığımız sperm elde edememe durumlarında oosit kriyoprezervasyonu uygulaması hastanın toplanan oositlerinin boşa gitmemesi açısından bir kurtarma yöntemi olarak uygulanmaktadır. Kliniğimizde dondurma-çözme sonrası oosit yüksek canlılık ve gebelik oranları ile hastalara güvenle bu yöntem uygulanabilmektedir.

Tablo 1. Oosit dondurma siklusu yapılan hastaların endikasyonlara göre dağılımı

	Hasta sayısı (n)	(%)
Oosit havuzlama	109	48,7
Bekar, azalmış over rezervi (DOR ¹)	45	20,1
Onkofertilite	6	2,7
Diğer ²	64	28,6
Toplam	224	100

¹DOR: Diminished Ovarian Reserve, ²Oosit toplama günü eş sperm veremeyen hastalar

Tablo 2. Dondurma-çözme siklus verileri

	Ortalama	SS ^a
Yaş	37,1	5,86
Oosit sayısı	5,72	6,25
Dondurulan oosit sayısı	4,50	4,29
Çözülen oosit sayısı	4,65	4,03
Çözme sonrası canlı kalan oosit sayısı	4,31	3,64
Fertilize olan oosit sayısı	2,34	2,58
Embriyo transfer yaşı	36,9	6,3
Ortalama saklama süresi	2,56	1,47

^aSS: Standart sapma

Tablo 3. Siklus verileri

Matürasyon oranı	%75,69
Oosit canlılık oranı	%92,68
Fertilizasyon oranı	%54,29
Gebelik oranı	%8,66
Canlı doğum oranı	%4,66

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çeşitli endikasyonlar nedeniyle oosit dondurma programına dahil olan hastaların çözme sonrası sonuçlarını değerlendirmek için az hasta olması çalışmamızın kısıtlayıcılıklarından bir tanesidir. Yine dondurma-çözme sonrası oluşan gebeliklerdeki abortus oranları ve obstetrik sonuçlar ile ilgili daha detaylı veri olmaması çalışmamızın limitasyonlarını oluşturmaktadır.

Sonuç

Eğitim sürelerinin uzaması ve buna bağlı aile kurma yaşının ilerlemesiyle kadınlarda yaşa bağlı infertilite riski artmakta; düşük over rezervi olan kadınların oosit kriyoprezervasyonu ile bu riski azaltılabileceği bizim çalışmamızda da vurgulanmak istendi. Gelişen oosit kriyoprezervasyon teknikleri ile sonuçların embriyo kriyoprezervasyonuna yakın olması, klinisyenlerin de gerekli endikasyonlar dahilinde oosit kriyoprezervasyonunu daha güvenli bir şekilde uygulayabilecekleri gösterilmek istendi. Uygulamanın artmasıyla yapılacak yeni çalışmalar uzun dönem sonuçlar açısından yol gösterici olacaktır.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak dizayn edildi ve çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2020/1543 belge numarası ile etik kurul izni alınmıştır.

Hasta Onayı: Retrospektif çalışmadır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: V.E., F.G., İ.P., Z.S., Konsept: V.E., F.G., V.K., Dizayn: V.E., F.G., Veri Toplama veya İşleme: V.E., G.O., İ.P., Analiz veya Yorumlama: V.E., F.G., V.K., İ.P., Z.S., Literatür Arama: V.E., G.O., İ.P., Yazan: V.E., V.K.

Çıkar Çatışması: Hiçbir yazar için çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Herhangi bir finansal destek bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Konc J, Kanyó K, Kriston R, Somoskői B, Cseh S. Cryopreservation of embryos and oocytes in human assisted reproduction, *Biomed Res Int* 2014;2014:307268.
2. Rajabi Z, Aliakbari F, Yazdekhasti H. Female Fertility Preservation, *Clinical and Experimental Options*. *J Reprod Infertil* 2018;19:125-32.
3. Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol* 2004;103:51-6.

4. Smith GD, Serafini PC, Fioravanti J, et al. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertil Steril* 2010;94:2088-95.
5. Cao Y, Xing Q, Li L, et al. Comparison of survival and embryonic development in human oocytes cryopreserved by slow-freezing and vitrification. *Fertil Steril* 2009;92:1306-11.
6. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001;16:411-6.
7. Wise J. UK lifts ban on frozen eggs. *BMJ* 2000;320:334.
8. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril* 2013;99:37-43.
9. Borini A, Bonu MA, Coticchio G, Bianchi V, Cattoli M, Flamigni C. Pregnancies and births after oocyte cryopreservation. *Fertil Steril* 2004;82:601-5.
10. Saragusty J, Arav A. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. *Reproduction* 2011;141:1-19.
11. Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, Ferraretti A, Trounson A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes. *Hum Reprod* 1999;14:3077-9.
12. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005;11:300-8.
13. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems, CG156. London: National Institute for Health and Clinical Excellence, 2013.
14. Smith GD, Serafini PC, Fioravanti J, et al. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertil Steril* 2010;94:2088-95.
15. Almodin CG, Minguetti-Camara VC, Paixao CL, Pereira PC. Embryo development and gestation using fresh and vitrified oocytes. *Hum Reprod* 2010;25:1192-8.
16. Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women. *Nat Rev Endocrinol* 2013;9:735-49.
17. Cobo A, Garrido N, Pellicer A, Remohi J. Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and development of a predictive model for oocyte survival rate. *Fertil Steril* 2015;104:1426-34.
18. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A, Domingo J, Pellicer A, Remohi J. Oocytes vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril* 2016;105:755-64.
19. Riggs R, Mayer J, Dowling-Lacey D, Chi TF, Jones E, Oehninger S. Does storage time influence postthaw survival and pregnancy outcome? An analysis of 11,768 cryopreserved human embryos. *Fertil Steril* 2010;93:109-15.
20. Pennings G. What are the ownership rights for gametes and embryos? Advance directives and the disposition of cryopreserved gametes and embryos? *Hum Reprod* 2000;15:979-86.
21. Schick M, Sexty R, Ditzen B, Wischmann T. Attitudes towards Social Oocyte Freezing from a Socio-cultural Perspective. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2017;77:747-55.
22. Chaput L, Grémeau AS, Vorilhon S, et al. [Fertility preservation in oncology]. *Bull Cancer* 2018;105:99-110.
23. Lin PY, Huang CC, Chen HH, Huang BX, Lee MS. Failed sperm retrieval from severely oligospermic or non-obstructive azoospermic patients on oocyte retrieval day: Emergent oocyte cryopreservation is a feasible strategy. *PLoS One* 2019;14:e0224919.