

Infertilitet

Knap 10% af danske børn kommer i dag til verden efter en eller anden form for fertilitetsbehandling. I dette temanummer belyses faktorer, der er årsag til infertilitet, og konsekvenser af dette. Forhold, der knytter sig til måden vi lever på, hvor førstegangsfødende bliver stadig ældre, og hvor mandens dalende sædkvalitet blandt andet er påvirket af miljøforhold. Samtidig har de teknologiske muligheder inden for assisteret reproduktions-teknologi udviklet sig eksplosivt, og det er glædeligt, at børn, der er født efter

assisteret reproduktions-teknologier helbredsmæssigt klarer sig godt. Det er dog vigtigt at bemærke, at både infertilitet og assisterede reproduktions-teknologier kan have negative psykosociale konsekvenser for dem, som ønsker at få børn, og dette bør medtænkes i vurderingen af det samlede behandlingstilbud. God læselyst!

Frans Boch Waldorff

Udvikling og udfordringer i fertilitetsbehandling i Danmark

Hans Jakob Ingerslev¹, Peter Humaidan² & Anders Nyboe Andersen³

Den første fødsel af et barn efter in vitro-fertilisering (IVF) markerede begyndelsen til en ny æra for behandling af ufrivillig barnløshed [1]. I en dansk lærebog for gynækologi fra 1982 anføres om IVF, at »Alene det meget store forbrug af ressourcer taler for, at metoden næppe vil vinde større anvendelse ...« [2]. Som det fremgår af nedenstående, udførtes der i Danmark i perioden 1997-2010 160.733 behandlinger, så denne forudsigtelse holdt ikke.

IVF-teknikken har givet en stigende forståelse for de reproduktionsbiologiske processer, og IVF er ikke blot et behandlingstilbud, men bidrager også med nye informationer om det enkelte pars reproduktionsbiologiske kapacitet, f.eks. ovariereserven og sædcellernes fertiliseringssevne. Assisteret reproduktions-teknologi (ART) (som omfatter IVF og afledte teknikker såsom mikroinsemination, oocytdonation og præimplantationsdiagnostik) integrerer således terapi og diagnostik. Hertil kommer, at ART har muliggjort indførelse af præimplantationsdiagnostik som et alternativ til prænatal diagnostik ved risiko for alvorlig arvelig sygdom [3]. Endelig har den viden og behandlingsskapacitet, der er opbygget i forbin-

delse med IVF-behandling, medført en tilsvarende udvikling af andre behandlingsformer, herunder intrauterin insemination (IUI).

Der kan ikke altid påvises en konkret årsag til infertilitet ved den rutinemæssige udredning af den mandlige faktor, ovulationsfunktionen og tubapassagen, men grundlæggende skyldes ufrivillig barnløshed sygelige tilstande i reproduktionssystemet. Man kan derfor tvangfrit se fertilitetsbehandling som en samfundsopgave på linje med anden sygdomsbehandling. Sygdomsbegrebet må dog anvendes med forsigtighed netop inden for forplantningen. Svangerskabsforebyggelse, herunder sterilisation, provokerede aborter og hjælp under en normal fødsel, er jo offentlige tilbud til helt overvejende raske kvinder og mænd og uden direkte relation til sygdomsbegrebet.

En af de store udfordringer ved fertilitetsbehandling i dag er demografien. Kvindens alder ved første barns fødsel er stigende og er nu knap 30 år. Denne udvikling har en lang række reproduktive konsekvenser i form af stigende risiko for infertilitet, højere abortrisiko og ringere resultater efter assisteret befrugtning [4]. Infertile kvinder, der påbegynder ferti-

STATUSARTIKEL

- 1) Fertilitetsklinikken, Aarhus Universitets-hospital
- 2) Fertilitetsklinikken, Odense Universitets-hospital
- 3) Fertilitetsklinikken, Rigshospitalet

TEMA



TABEL 1

Oversigt over de vigtigste love og bekendtgørelser for behandling med kunstig befrugtning [5].

Bekendtgørelse om nedfrysning og donation af menneskelige æg, 22. juli 1992. Sundhedsministeriet. 2.kt. j.nr. 383-3/1992
Lov om kunstig befrugtning. Lovbekendtgørelse nr. 923 af 4. september 2006
Regler for donation og opbevaring af æg og sæd samt vedrørende godkendelse af nye behandlinger. Bekendtgørelse nr. 1724 af 21. december 2006 om kunstig befrugtning
Lægers indberetningspligt. Bekendtgørelse nr. 1522 af 16. december 2004 om indberetning af IVF-behandling mv. samt præimplantationsdiagnostik og svangerskabsreduktion (til landets læger)
Regler om vurdering af forældreegnethed (kunstig befrugtning). Bekendtgørelse nr. 119 af 7. februar 2007 om vurdering af forældreegnethed i forbindelse med behandling med kunstig befrugtning
Regler om præimplantationsdiagnostik i særlige tilfælde, som kræver Sundhedsstyrelsens godkendelse. Bekendtgørelse nr. 286 af 23. april 2004 om anvendelse af præimplantationsdiagnostik i særlige tilfælde
Sundhedsstyrelsens vejledning til lægerne om kunstig befrugtning
Børneloven, kapitel 5. Faderskab og moderskab ved kunstig befrugtning
Lov nr. 273 af 1. april 2006 om krav til kvalitet og sikkerhed ved håndtering af humane væv og celler (vævsloven)
Bekendtgørelse nr. 753 af 3. juli 2006 om kvalitet og sikkerhed ved donation, udtagning og testning (humane væv og celler)
Vejledning nr. 55 af 3. juli 2006 om kvalitet og sikkerhed ved donation, udtagning og testning (humane væv og celler)

IVF = in vitro-fertilisering.

litetsbehandling, er i gennemsnit 33 år, men har haft ønske om graviditet lige så længe som de fertile kvinder. En anden udfordring har været at opretholde en høj graviditetsrate og samtidig minimere gener, risici og omkostninger ved behandlingen.

Hensigten med nærværende statusartikel er at give Ugeskrift for Lægers læserkreds et overblik over rammer, muligheder og potentiale for de teknologier, som i dag bidrager til knap 10% af en børneårgang i Danmark.

LOVGIVNING OG REGLER

Som vist i **Tabel 1** er barnløshedsbehandling i Danmark reguleret af en lang række love, bekendtgørelser og forordninger. Desuden er der indgået særlige aftaler om og vedtaget regler for adgang til behandling på de offentlige sygehuse. Begrebet kunstig befrugtning defineredes i forbindelse med lovgivningsarbejdet og er en lidt uheldig dansk betegnelse, som omfatter både behandling med IUI og IVF. Internationalt betegnes IVF og afledte teknikker *assisted reproductive technologies*, et begreb, der ikke omfatter insemination.

Lov om kunstig befrugtning af juni 2006 og den tilhørende vejledning fastlægger regler for, hvem der kan modtage behandling, og hvordan den skal foregå. Behandlingen tilbydes i dag både enlige kvin-

der og par og må i Danmark ikke udføres, efter at kvinden er fyldt 46 år. Lovgivningen pålægger bl.a. de behandlende læger at være opmærksomme på kvindens/parrets omsorgsevne i forhold til det kommende barn. Ved tvivl kan statsforvaltningen indtrædes og evt. afslå behandling. Folketinget har netop vedtaget en række lovændringer, der trådte i kraft pr. 1. oktober 2012. Loven muliggør både anonym og ikkeanonym æg- og sæddonation. Endvidere er lægelige og ikke lægelige behandlere sidestillet mhp. opfyldelse af lovgivningens krav.

I »vævsloven« beskrives rammerne for den laboratoriemæssige håndtering af æg, sæd og embryoner. Herudover stilles der krav om godkendelse af behandlingsstederne, som alle har indberetningspligt.

På offentlige sygehuse kan der kun ydes hjælp med kunstig befrugtning til par, som ikke har fællesbørn, eller til enlige kvinder uden børn. Ifølge en gammel interamtlig aftale behandles der ikke, når kvinden er over 40 år [6]. Ligeledes tilbydes der i offentligt regi kun tre ægoplægninger ved IVF-behandling.

Af de godt 31.000 behandlinger med »kunstig befrugtning«, der blev udført i Danmark i 2011, blev ca. 32% udført på offentlige klinikker, 47% på private og resten hos praktiserende speciallæger, på jordemoderklinikker og på gynækologiske afdelinger (ikkeoffentliggjorte data fra Dansk Fertilitetselskab).

FERTILITETSBEHANDLINGENS BETYDNING FOR DE NATIONALE FØDELSRATER OG PARRETS PROGNOSE

Danmark har i flere år været det land i Europa, hvor der udføres flest behandlinger med ART [7], og det land hvor den største procentdel af en fødselsårgang fødes, efter at moderen har fået behandling med ART.

På verdensplan er der er til dato født ca. 4 mio. børn efter IVF-behandling. I **Tabel 2** ses antal og resultater af ART udført i Danmark i perioden 1997-2010. Aktiviteten og antallet af fødsler er fordoblet i perioden, mens fødselsraten pr. påbegyndt behandling med IVF eller intracytoplasmatiske sædcelleinjektion (ICSI) er stationær på omkring 20% på trods af, at der oplægges færre embryoner ved den enkelte behandling end tidligere, hvilket har reduceret antallet af flerfoldsgraviditeter fra 20% til omkring 15%. Det fordoblede antal behandlinger er næppe udtryk for, at hyppigheden af infertilitet stiger, men snarere en gradvist bedret tilgængelighed af behandling og bedre registrering.

Fødselsraterne er aldersafhængige. I 2010 var graviditetsraten pr. påbegyndt cyklus med IVF/ICSI således 27% hos kvinder < 40 år og 13% hos kvinder ≥ 40 år. Graviditetsraten efter oplægning af optøede

embryoner var i 2010 på 17% pr. optøning. Hvis man adderer fødselschancen ved fryseoplægninger til fødselschancen efter en IVF/ICSI-cyklus, opnår man i gennemsnit en samlet fødselschance efter en enkelt hormonstimuleret cyklus på 27% (ikkeoffentliggjorte data fra Dansk Fertilitetselskab). I en stor dansk kohorteundersøgelse med patienter, der var behandlet på offentlige fertilitetsklinikker, fandt man, at to ud af tre par får et barn efter det samlede behandlingsforløb [8].

Behandling med ægdonation har ikke noget væsentligt omfang i Danmark (Tabel 2), men er øget efter 2007, hvor lovgivningen tillod fertile raske kvinder at donere. Ved ægdonation opnåede 23% graviditet pr. donation i 2010.

Samtidig med udviklingen i behandlinger med reagensglasbefrugtninger er der sket en markant stigning i antallet af inseminationer, det være sig med homolog sæd (IUI-H) og donorsæd (IUI-D). I 2010 var antallet af registrerede behandlinger med IUI-H 11.900 og med IUI-D 9.553, altså en samlet aktivitet på 21.453 behandlinger med insemination. Disse tal er steget igennem det seneste årti overvejende på grund af bedre registrering.

I Dansk Fertilitetselskab skønner man, at den samlede aktivitet med IVF/ICSI og insemination i 2010 resulterede i 6.275 levedygtige fostre. Da fødselstallet i Danmark gennem de seneste år har været under 65.000 bør pr. år, betyder det, at ca. 9% af de danske børn i dag kommer til verden efter en eller anden form for fertilitetsbehandling.

UDFORDRINGER VED IN VITRO-FERTILISERING/ INTRACYTOPLASMATISK SÆDCELLEINJEKTION

I de seneste ti år har hovedfokus inden for IVF/ICSI-behandling været at forbedre behandlingerne, bl.a. ved at optimere hormonstimulering, embryodyrkning og -nedfrysning samt give patienterne et mere skånsomt behandlingsforløb med minimeret risiko for at få overstimuleringsyndrom.

Ændrede stimuleringsprotokoller

Den normale fertile kvinde rekrutterer et konstant antal follikler via overvejende ukendte mekanismer. Antallet, der rekrutteres og når frem til præantralstadiet, er proportionalt med størrelsen af den pool af follikler, en given kvinde har til rådighed på et givet tidspunkt. En kvinde med stor ovariereserve kan stimuleres til at udvikle mange modne follikler, hvis hun får en tilstrækkelig dosis af follikelstimulerende hormon (FSH), mens en kvinde (oftest ældre) med lille ovariereserve kun vil kunne frembringe få modne follikler, uanset hvor stor FSH-dosis der gives. Ved måling af niveauet af serum-anti-Müllersk hormon (AMH) og antralfollikeltallet med ultralydskanning er det i dag muligt at bestemme kvindens ægreserve [9, 10], hvilket gør det muligt at individualisere hormondosis og stimuleringsprotokol. Der foreligger i dag gode observationelle undersøgelser [11, 12], hvor man har fundet den ideelle stimuleringsprotokol til kvinder med lavt, normalt og højt AMH-niveau.

Den hyppigst anvendte standardbehandling, er den såkaldt »lange nedregulering«, hvor behandling



TABEL 2

År	IVF/ICSI, n	FER, n	Æg-donation, n	I alt, n	Fødsler, n (%)	Flerfolds-graviditeter, %
2010	12.234	3.371	225	15.830	3.190 (20,2)	15,7
2009	11.538	3.116	230	14.884	2.859 (19,2)	16,3
2008	10.478	2.610	228	13.316	2.866 (21,5)	16,7
2007	11.035	2.668	140	13.843	2.695 (19,5)	19,5
2006	9.936	2.515	35	12.486	2.253 (18,0)	18,6
2005	9.541	2.323	67	11.931	2.441 (20,5)	20,7
2004	9.598	1.853	67	11.518	2.152 (18,7)	21,2
2003	9.292	1.519	82	10.839	2.019 (18,7)	22,7
2002	9.631	1.543	148	11.321	2.178 (19,2)	22,8
2001	8.805	1.341	159	10.305	2.049 (19,9)	–
2000	8.282	1.242	158	9.910	1.943 (19,6)	–
1999	7.624	1.019	150	8.793	1.716 (19,5)	–
1998	7.281	1.128	121	8.530	1.600 (18,8)	–
1997	6.768	943	144	7.855	1.443 (18,4)	–
I alt 1997-2010	132.043	27.191	1.499	160.733	31.404 (19,5)	15,7-22,8

FER = oplægning af optøede embryoner; IVF = in vitro-fertilisering; ICSI = intracytoplasmatisk sædcelleinjektion.

Oversigt over antallet af behandlinger med reagensglasbefrugtninger i Danmark i perioden 1997-2010. Data baseres på de årlige opgørelser fra Dansk Fertilitetselskab.



Kinetisk vurdering af embryoudvikling ved hjælp af *time-lapse* (embryoskop).

påbegyndes med gonadotropinfrisættende hormon (GnRH)-agonist (hyppigst som næsespray) i midt-lutealfasen, og ca. to uger senere påbegyndes stimulering med FSH frem til udvikling af modne follikler (≥ 17 mm) ca. 12 dage senere. En nyere protokol er den såkaldt »korte« protokol, hvor man anvender en GnRH-antagonist, som direkte blokerer receptorerne i hypofysen og derfor kan indsættes sidst i stimuleringsperioden, hvor der er risiko for spontan ægløsning. Der synes ikke at være en sikker forskel på graviditetsrater efter behandling med de to modeller, og den korte protokol vinder tiltagende indpas, bl.a. fordi den er mere patientvenlig og halverer risikoen for overstimuleringsyndrom.

Behandlingsresultaterne aftager markant med kvindens alder. En af udfordringerne har her været at finde protokoller, der bedrer graviditetschancerne hos kvinder med en høj »reproduktiv alder«. Ved hormonstimulering af kvinder ≥ 35 år har man i flere subgruppeanalyser og senest et større studie peget på, at tillæg af hypofysehormonet luteiniserende hormon til FSH under stimulering kan øge andelen af embryoner, som implanteres [13].

Reduktion af overstimuleringsrisiko

En anden udfordring ved stimulering af ovarier med eksogene gonadotropiner er ovariehyperstimuleringsyndrom (OHSS), som er en potentielt livstruende tilstand med bl.a. ovarieforstørrelse, ascites, væske- og elektrolytbalanceforskydning, hæmokoncentrering, tromboserisiko samt respirationsbesvær på grund af ascites og hydrothorax. I en standard-IVF-population forekommer svær, indlæggelseskrævende OHSS med en incidens på 2%, mens mode-

rat OHSS har en incidens på 5% [14]. Hos patienter med en meget stor follikelreserve som ved polycystisk ovarie-syndrom er incidensen af svær OHSS imidlertid væsentlig højere, nemlig ca. 15% [15]. Risikoen for OHSS kan i dag reduceres, dels ved at reducere gonadotropindosis, dels ved anvendelse af den korte protokol og endelig ved at anvende et nyere koncept til ovulationsinduktion med GnRH-agonist i stedet for hCG til induktion af ovulation. Gennem de senere år har især danske studier medvirket til udvikling af denne procedure, som synes at give uændret graviditetschance og samtidig stort set eliminerer risikoen for overstimuleringsyndrom [16-20].

Dyrkning og nedfrysning

På de fleste danske fertilitetsklinikker oplægges man fortsat embryoner efter to døgn dyrkning, hvor embryoet er på 4-celle-stadiet. En større Cochraneanalyse har dog vist, at der specielt hos kvinder med god ovariereserve, dvs. mange høstede oocytter, opnås signifikant højere graviditetsrater ved oplægning efter fem døgn dyrkning, dvs. til blastocyststadiet [21]. I de senere år er der udviklet nye frysemetoder med anvendelse af vitrifikation, som især synes at medføre markant øget overlevelse og implantation af blastocyster efter optøning [22, 23]. En øget anvendelse af blastocystdyrkning hos kvinder med mange æg kombineret med vitrifikation er gradvist ved at vinde indpas på danske fertilitetsklinikker.

UDVIKLINGSOMRÅDER

Efter en periode, hvor der er oplagt færre og færre embryoner, er der set en stagnation i graviditetsraterne pr. behandling, men det må formodes, at en række nye strategier vil kunne øge graviditetschancen ved IVF/ICSI-behandling.

Implantationschancen for et embryo fra en kvinde, der er i begyndelsen af 30'erne, er i dag ca.



FAKTABOKS

I Danmark fødes der årligt ca. 6.300 børn eller ca. 9% af en børneårgang efter fertilitetsbehandling.

I 2011 udførtes der ca. 31.000 behandlinger med in vitro-fertilisering (IVF)/ intracytoplasmatiske sædcelleinjektion (ICSI) eller insemination, heraf 32% på offentlige fertilitetsklinikker.

Der oplægges færre embryoner end tidligere, hvilket har bevirket et fald i tvillingeraten efter IVF/ICSI-behandling.

Individualiseret hormonbehandling og ovulationsinduktion forbedrer resultaterne og reducerer bivirkningerne.

Optimeret dyrkning, bedre frysemetoder og anvendelse af biomarkører forventes at kunne forbedre behandlingsresultaterne yderligere.

30%. Der er evidens for, at andelen af aneuploide embryoner stiger med alderen, men selv hos unge kvinder er tæt ved halvdelen af embryonerne aneuploide [24]. Hos de kvinder, hvor der er flere embryoner at vælge imellem, vil nye biomarkører formentlig kunne hjælpe os til at udvælge det bedste embryo til oplægning i livmoderen. Embryonets genetiske konstitution vil kunne vurderes efter såkaldt *whole genomic amplification* ved hjælp af *array*-baseret analyse af biopsereede pollegemer, blastomerer eller trofektoderm, som kan indeholde oplysninger om aneuploidi og genekspressionsmønstre. Analyse med f.eks. massespektrometri eller *nuclear magnetic resonance*-skanning af protein- eller metabolitsammensætning af de medier, embryonerne er dyrket i, vil formentlig kunne belyse embryonets metabolisme og dermed øge identifikationen af embryoner med størst graviditetschance.

I dag udvælges embryoner på baggrund af morfologisk vurdering på faste tidspunkter. Dynamisk bedømmelse af embryonets udvikling ved hjælp af *time-lapse* forventes at kunne forbedre grundlaget for at udvælge det bedste embryo [25]. Herudover er udvikling af teknikker til identifikation af det receptive/ikkereceptive endometrium undervejs [26]. Nedfrysning af embryoner ved fund af et ikkereceptivt endometrium og senere oplægning i kvindens naturlige cyklus kan således meget vel blive fremtiden.

KORRESPONDANCE: Hans Jakob Ingerslev, Fertilitetsklinikken, Aarhus Universitets-hospital, 8200 Aarhus N. E-mail: jakob.ingerslev@skejby.rm.dk

ANTAGET: 10. august 2012

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftenet.dk

LITTERATUR

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978;312:366.
2. Ingerslev M. Gynækologi for almen praksis. Aarhus: Universitetsforlaget i Aarhus, 1982.
3. Ingerslev HJ, Poulsen PB, Højgaard A et al. Præimplantationsdiagnostik – en medicinsk teknologivurdering. *Medicinsk Teknologivurdering – puljeprojekter*. 2002;2(1). www.sst.dk/publ/Publ2002/Praeimplant/Praeimplant.pdf (27. aug 2012).
4. Schmidt L, Sobotka T, Bentzen JG et al. The ESHRE Reproduction and Society Task Force. Demographic and medical consequences of the postponement of parenthood. *Hum Reprod Update* 2012;18:29-43.
5. Kunstig befrugtning. Nyttige links. Sundhedsstyrelsen. <http://www.sst.dk/Sundhed%20og%20forebyggelse/Graviditet/Kunstig%20befrugtning.aspx> (www.sst.dk/publ/Publ2002/Praeimplant/Praeimplant.pdf (27. aug 2012).
6. Westergaard LG, Rasmussen PE, Maigaard S et al. Indikationer for in vitro fertilisering (IVF) på de offentlige fertilitetsklinikker. *Ugeskr Læger* 1994;156:1970.
7. de Mouzon J, Goossens V, Bhattacharya S et al. European IVF-Monitoring (EIM); Consortium for the European Society on Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2007: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2012;27:954-66.
8. Pinborg A, Hougaard CO, Nyboe Andersen A et al. Prospective longitudinal cohort study on cumulative 5-year delivery and adoption rates among 1338 couples initiating infertility treatment. *Hum Reprod* 2009;24:991-9.
9. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D et al. Anti-Müllerian Hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010;16:113-30.
10. Broer SL, Dolleman M, Opmear BC et al. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod Update* 2011;17:46-54.
11. Yates AP, Rustamov OO, Roberts SA et al. Anti-Müllerian hormone-tailored stimulation protocols improve outcomes whilst reducing adverse effects and costs of IVF. *Hum Reprod* 2011;26:2352-62.
12. Nelson SM, Yates RW, Luall H et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod* 2009;24:867-75.
13. Bosch E, Labarta E, Crespo J et al. Impact of luteinizing hormone administration on gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: an age-adjusted analysis. *Fertil Steril* 2011;95:1031-6.
14. Papanikolaou EG, Tournaye H, Verpoest W et al. Early and late ovarian hyperstimulation syndrome: early pregnancy outcome and profile. *Hum Reprod* 2005;20:636-41.
15. Swanton A, Storey L, McVeigh E et al. IVF outcome in women with PCOS, PCO and normal ovarian morphology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;149:68-71.
16. Humaidan P, Bungum L, Bungum M et al. Rescue of corpus luteum function with peri-ovulatory HCG supplementation in IVF/ICSI GnRH antagonist cycles in which ovulation was triggered with a GnRH agonist: a pilot study. *Reprod Biomed Online* 2006;13:173-8.
17. Humaidan P, Ejdrup BH, Westergaard LG et al. 1,500 IU human chorionic gonadotropin administered at oocyte retrieval rescues the luteal phase when gonadotropin-releasing hormone agonist is used for ovulation induction: a prospective, randomized, controlled study. *Fertil Steril* 2010;93:847-54.
18. Humaidan P, Kol S, Papanikolaou EG. GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice? *Hum Reprod Update* 2011;17:510-24.
19. Humaidan P. Luteal phase rescue in high-risk OHSS patients by GnRHa triggering in combination with low-dose HCG: a pilot study. *Reprod Biomed Online* 2009;18:630-4.
20. Radesic B, Tremellen K. Oocyte maturation employing a GnRH agonist in combination with low-dose hCG luteal rescue minimizes the severity of ovarian hyperstimulation syndrome while maintaining excellent pregnancy rates. *Hum Reprod* 2011;26:3437-42.
21. Blake D, Farquhar C, Johnson N et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Dat Syst Rev* 2007;4:CD002118.
22. Balaban B, Urman B, Ata B et al. A randomized controlled study of human day 3 embryo cryopreservation by slow freezing or vitrification: vitrification is associated with higher survival, metabolism and blastocyst formation. *Hum Reprod* 2008;23:1976-82.
23. AbdelHafez F, Xu J, Goldberg J et al. Vitrification in open and closed carriers at different cell stages: assessment of embryo survival, development, DNA integrity and stability during vapor phase storage for transport. *BMC Biotechnol* 2011;11:29.
24. Munné S, Chen S, Colls P et al. Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *Reprod Biomed Online* 2007;14:628-34.
25. Kirkegaard K, Agerholm IE, Ingerslev HJ. Time-lapse monitoring as a tool for clinical embryo assessment. *Hum Reprod* 14. mar 2012 (epub ahead of print).
26. Evans GE, Martínez-Conejero JA, Phillipson GT et al. Gene and protein expression signature of endometrial glandular and stromal compartments during the window of implantation. *Fertil Steril* 3. apr 2012 (epub ahead of print).