

**Samenvatting terugkoppelingsavond TurnerFertility studie**

**Datum: juni 2022**

## 1. Update TurnerFertility studie

### Aanmeldingen onderzoek

In de afgelopen 5 jaar zijn er 189 families naar de informatieavond gekomen en hebben 173 families een individueel counselingsgesprek met ons aangevraagd. Tijdens het counselingsgesprek werden o.a. de verschillende opties om later moeder te kunnen worden besproken en werd er informatie gegeven over de studie. Eind januari 2020 hadden wij de beoogde 100 inschrijvingen bereikt. Echter, op dat moment stond er nog een nieuwe informatieavond gepland in maart. Wij hebben contact gehad met de ethische commissie met de vraag of deze meisjes nog mee mochten doen aan de studie, als ze hiervoor in aanmerking zouden komen. De ethische commissie heeft hier goedkeuring voor gegeven.

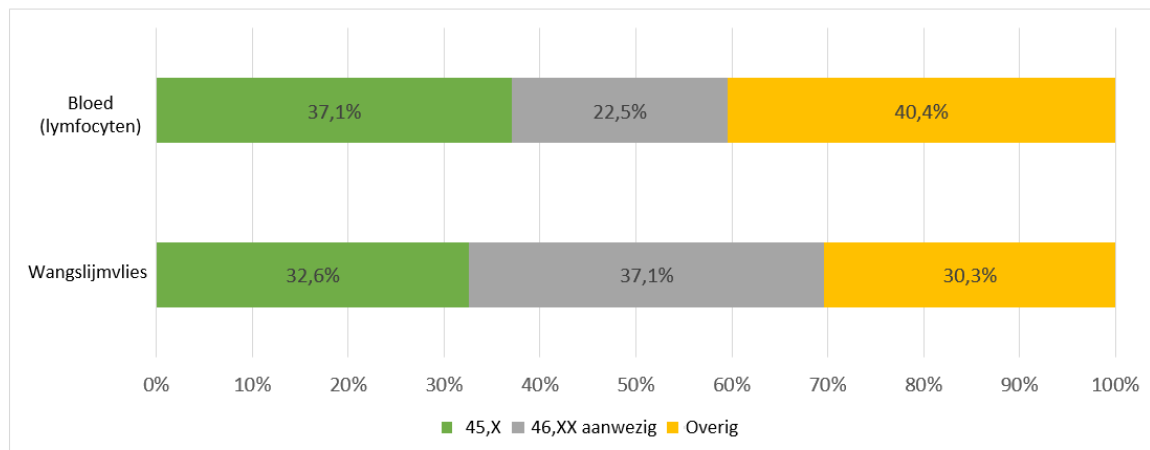
### Deelnemers

In totaal hebben 106 ouders en meisjes het toestemmingsformulier getekend en daarvan hebben 13 meisjes zich nog teruggetrokken uit de studie. De meest voorkomende redenen waren: dat de kans op slagen niet meer opwoog tegen de risico's van de operatie of dat het meisje door de wachttijd de leeftijd had bereikt om eicellen in te vriezen. Begin juli 2022 hebben we de laatste operatie uitgevoerd en in totaal zijn er 93 meisjes geopereerd, waarvan de analyse van 89 meisjes is voltooid.

De gemiddelde leeftijd van de deelnemers was 12 jaar (minimale leeftijd 3 jaar en maximale leeftijd 19 jaar op de dag van de operatie). Bij 27% van de meisjes was er sprake van spontane borstontwikkeling (vooral meisjes met ook 46,XX in het bloed of wangslijmvlies) en 9% van de meisjes was spontaan ongesteld geworden (alleen meisjes met ook 46,XX in het bloed of wangslijmvlies). Ongeveer 43% had nog niet de leeftijd bereikt om in de puberteit te komen.

### Chromosoompatroon in het bloed en wangslijmvlies

Bij de meeste meisjes was het chromosoompatroon in het bloed al van te voren bepaald door de kinderarts. Op de dag van het counselingsgesprek hebben we ook een onderzoek ingezet om te kijken wat het chromosoompatroon is in het wangslijmvlies.



*Overzicht chromosoompatronen in het bloed en wangslijmvlies*

Op het plaatje wordt in het groen de meisjes weergegeven met alleen 45,X in het bloed en wangslijmvlies, in het grijs worden de meisjes weergegeven die ook een 46,XX cellijn hadden en in het oranje worden de overige meisjes weergegeven die een structurele afwijking (o.a. ringchromosoom of het ontbreken van een stukje X chromosoom) of een 45,X/47,XXX chromosoompatroon hadden.

We hebben gezien dat er bij een aantal meisjes nog een verborgen normale (46,XX) cellijn aanwezig was in het wangslijmvlies! Hier waren we nooit achter gekomen, als we alleen naar het chromosoompatroon in het bloed hadden gekeken. Om een beter beeld te krijgen over de aanwezige cellijnen in het lichaam en de kans op het vinden eicellen, is het belangrijk om te kijken naar het chromosoompatroon in het bloed én het wangslijmvlies.

#### Aanwezigheid eicellen per chromosoompatroon

Bij 33% van de meisjes hebben we nu eicellen gevonden. De kans op het vinden van eicellen was het grootst (65%) in de groep meisjes die een 46,XX cellijn hadden in het bloed of het wangslijmvlies. We hebben ook eicellen gevonden bij één meisje met alleen 45,X in het bloed en wangslijmvlies. Zij was het enige meisje in deze groep met een meetbaar AMH (Anti-Mulleriaans Hormoon). Het AMH is een waarde voor de eicelvoorraad. Bij de meisjes met alleen 45,X cellen in bloed en wangslijmvlies én een onmeetbaar AMH hebben wij vooralsnog géén eicellen gevonden. Op dit moment gaat dit om 27 meisjes waarvan de jongste meisjes 3 jaar oud waren ten tijde van de ingreep. In de groep meisjes met een structurele afwijking of 45,X/47,XXX zijn bij 9 van de 31 meisjes eicellen gevonden.

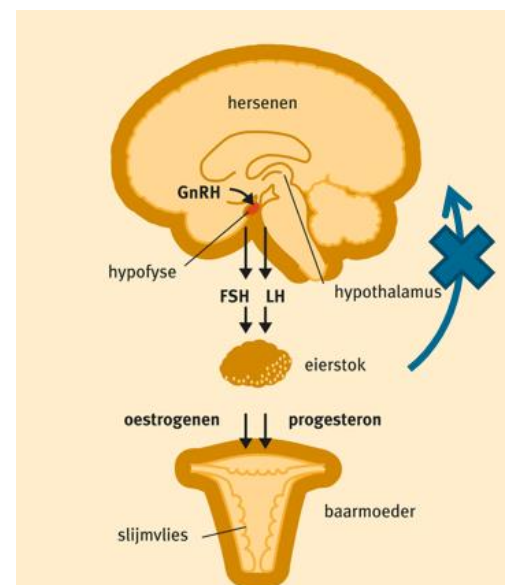
#### Aanwezigheid eicellen en puberteit

Als we kijken naar de aanwezigheid van eicellen en de puberteitsontwikkeling, zien we dat de kans op het vinden van eicellen het grootst is in de groep meisjes die spontane borstontwikkeling hebben gehad (bijna 70%) en in de groep die spontaan ongesteld is geworden (bijna 90%). De meisjes die niet spontaan in de puberteit zijn gekomen, hadden de minste kans op het vinden van eicellen (minder dan 10%). Bij de meisjes die nog niet de leeftijd hadden om in de puberteit te komen was de kans op het vinden van eicellen 30%.

#### Aanwezigheid eicellen en hormoonwaardes

Vlak voor de operatie is er ook bloed afgenomen bij de meisjes om te kijken naar de hormoonwaardes. Er zijn twee waardes naar voren gekomen die gunstig kunnen zijn voor het voorspellen van de aanwezigheid van eicellen, namelijk het follikel stimulerend hormoon (FSH) en het AMH zoals hiervoor genoemd.

Normaal maken de hersenen het hormoon FSH aan om de eierstok te stimuleren om een eiblaasje te laten groeien. Op het moment dat het eiblaasje groot genoeg is, geeft de eierstok weer een signaal terug aan de hersenen dat er minder FSH aangemaakt moet worden. Echter, als er geen eiblaasje groeit in de eierstok, omdat de eicelvoorraad uitgeput is, zal de eierstok ook geen signaal terugsturen naar de hersenen dat het FSH lager moet worden. Hierdoor zal de FSH blijven stijgen en dit kunnen we dan ook zien in het bloed.



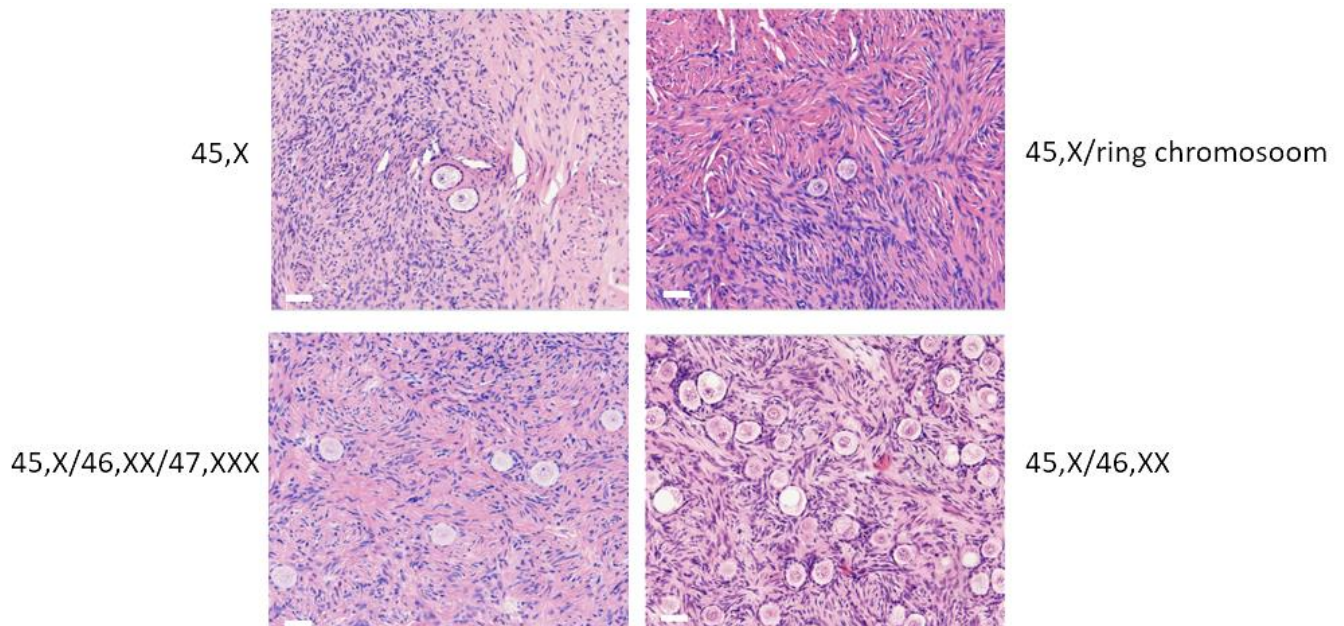
We hebben van de 30 meisjes die eicellen hadden, gezien dat bij 26 meisjes er sprake was van een normaal FSH en een meetbaar AMH.

De kans op het vinden van eicellen bij een meisje met een hoog FSH en een onmeetbaar AMH is ontzettend klein.

*Overzicht aanmaak FSH*

#### Geschatte eicelvoorraad per chromosoompatroon

De geschatte eicelvoorraad in de eierstok varieert enorm tussen de meisjes. Hieronder zie je 4 plaatjes van het eierstokweefsel van 4 meisjes met 4 verschillende chromosoompatronen.



*Follikeldichtheid per chromosoompatroon*

Linksboven zie je het eierstokweefsel van een meisje met 45,X met daarin 2 eicellen in het midden. Rechtsboven zie je het eierstokweefsel van een meisje met 45,X/ringchromosoom met een vergelijkbaar beeld als het meisje met 45,X. Linksonder zie je het eierstokweefsel van een meisje met 3 verschillende cellijnen (45,X/ 46,XX/47,XXX). Hierin zijn er al meer eicellen aanwezig in de eierstok. Rechtsonder zie je het eierstokweefsel van een meisje met 45,X/46,XX waarin nog meer eicellen aanwezig zijn. We hebben gezien dat de geschatte eicelvoorraad bij meisjes met een 46,XX cellijn in het bloed of wangslimvlies het hoogst was. Bij meisjes met 45,X, een structurele afwijking of 45,X/47,XXX ligt dit bijna een factor 10 tot 100 lager.

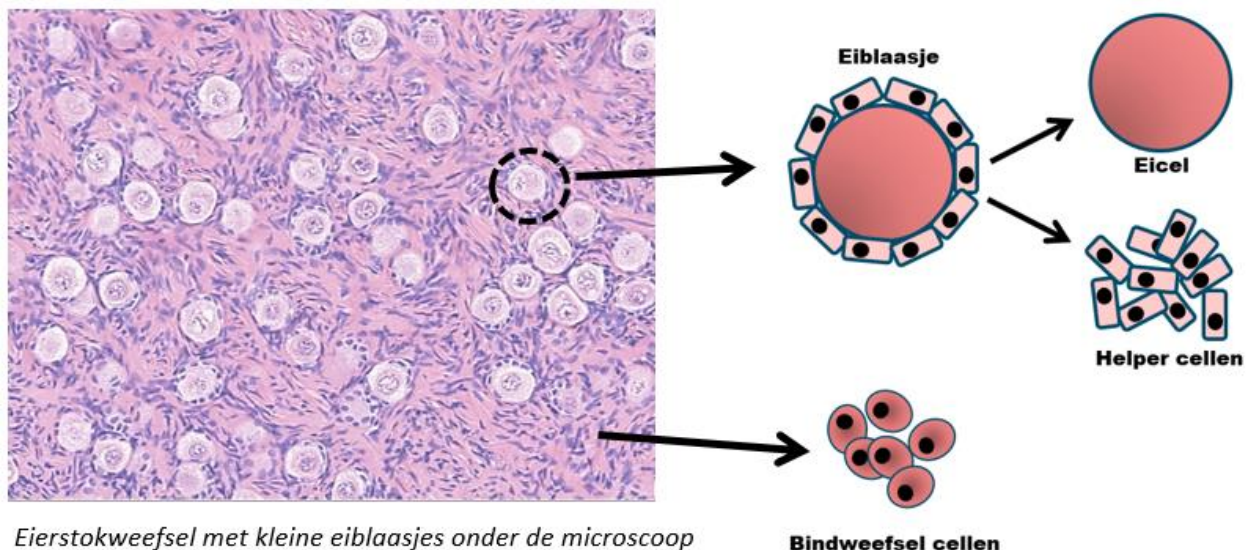
#### Veiligheid operatie

In verhouding met het aantal operaties die zijn uitgevoerd, zijn er gelukkig weinig complicaties geweest na de operatie. Desalniettemin zijn het wel belangrijke complicaties om te benoemen. Bij 2 meisjes is er na het zetten van het infuus sprake geweest van een pijnlijke blauwe plek. Daarnaast is bij 1 meisje, die op jonge leeftijd bekend was met een vorm van scheelzien, ook het zicht tijdelijk verslechterd na de operatie (waarschijnlijk uitgelokt door de narcose). Als laatste is er bij 2 meisjes sprake geweest van verergering van de psychische klachten na het horen van de uitslag dat er geen eicellen waren.

Naarmate de studie vorderde, zijn wij als zorgverleners steeds actiever gaan benadrukken dat de optie er is om een gesprek bij de kinderpsycholoog aan te vragen tijdens het traject of na het horen van de uitslag, omdat deze studie mentaal veel van de meisjes kan vragen. Mocht er nu of op een later moment alsnog behoefte zijn aan een gesprek met een kinderpsycholoog of met een van ons, dan kunnen jullie altijd contact met ons opnemen via: [turnerfertility@radboudumc.nl](mailto:turnerfertility@radboudumc.nl).

## 2. Kwaliteit van de eicellen

De eiblaasjes bestaan uit een eicel en daaromheen liggen helpercellen die ervoor zorgen dat de eicel goed kan uitrijpen. De eiblaasjes liggen in het bindweefsel wat ook een belangrijke rol speelt bij het activeren en ondersteunen van de groei van de eiblaasjes. In ons onderzoek hebben we gezien dat de eicellen bij meisjes met het syndroom van Turner meestal een normaal chromosomenpatroon hebben, maar dat de helpercellen en de bindweefsel cellen vaak een X-chromosoom missen<sup>1,2</sup>. Aangezien de eicellen, helpercellen en bindweefselcellen nauw met elkaar in contact staan, kan het missen van een X-chromosoom gevolgen hebben voor de groei en rijping van de eiblaasjes.



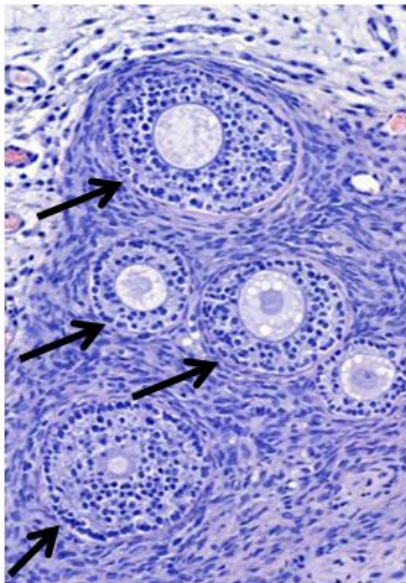
### Onderzoek naar de groei van de eiblaasjes

De enige manier om de groei en rijping van de gevonden eiblaasjes op dit moment te onderzoeken, is door tijdelijk een stukje van het eierstokweefsel onder de huid van een muis te plaatsen (xenotransplantatie). We hebben 12 meisjes met een 46,XX cellijn in het bloed of wangslimvlies en hun ouders opnieuw benaderd om te vragen of het stukje eierstokweefsel wat voor onderzoek apart is gehouden voor deze studie gebruikt mag worden.

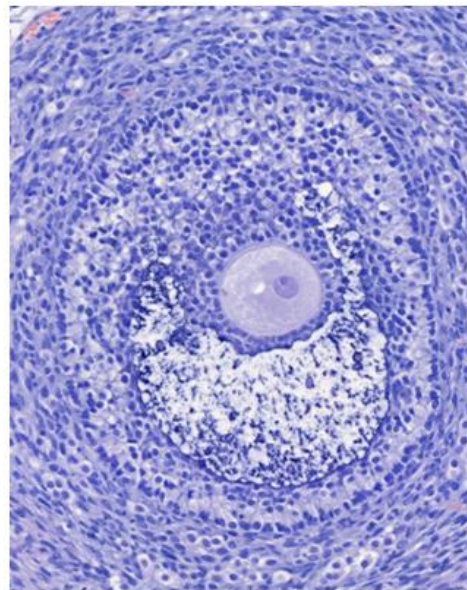
In september 2020 hebben we samen met een ervaren onderzoeksteam in Brussel het onderzoek uitgevoerd. Gedurende 5 maanden heeft het eierstokweefsel de nodige hormonen gekregen om de eicellen te laten groeien onder de huid van een muis. Hierna werd het weefsel weer uit de muis gehaald en in dunne plakjes gesneden, zodat we onder de microscoop konden zien of de eiblaasjes inderdaad verder zijn gaan groeien.

### Uitkomsten van het onderzoek

We hebben gezien dat normale groei en rijping van de kleine eiblaasjes mogelijk is, ondanks dat de meeste helpercellen en bindweefsel cellen een X-chromosoom missen! In meerdere stukjes weefsel hebben we eiblaasjes gezien die in de tweede fase van de rijping zaten en in enkele gevallen zelfs eiblaasjes die in de laatste fase van de rijping zaten. Dit is te herkennen, doordat er meerdere lagen van de helpercellen om de eicel liggen. De vorm van de eiblaasjes zag er onder de microscoop ook normaal uit.



*Meerdere eiblaasjes in de 2<sup>e</sup> fase van de rijping*



*Eiblaasje in de laatste fase van de rijping*

Het aantal eiblaasjes was na de transplantatie in de muis beduidend minder dan ervoor. Dit kan onder andere komen doordat direct na de terugplaatsing er nog geen nieuwe bloedvaten aanwezig zijn voor het eierstokweefsel. Hierdoor krijgen de eiblaasjes tijdelijk niet de juiste voedingsstoffen om te overleven en gaan helaas veel eiblaasjes verloren. Daarnaast weten we dat naarmate het meisje ouder wordt de eicelvoorraad minder wordt. Deze meisjes zullen dus vooraf aan de terugplaatsing minder eiblaasjes hebben in het weefsel.

We hebben ook gekeken naar het X-chromosoompatroon van de helpercellen van de eiblaasjes die in de 2<sup>e</sup> en laatste fase zaten van de rijping. Opvallend was dat het percentage helpercellen met maar één X-chromosoom aanzienlijk daalde naarmate de eiblaasjes verder kwamen in het rijpingsproces. Dit kan door twee verschillende oorzaken verklaard worden:

1. De kleine eiblaasjes met normale helpercellen zullen eerder het rijpingsproces ingaan dan de eiblaasjes waarbij de helpercellen een X-chromosoom missen.
2. De helpercellen met een normaal chromosoompatroon kunnen zich sneller delen en vermenigvuldigen dan de helpercellen die een X-chromosoom missen.

De natuurlijke selectie van normale helpercellen kan verklaren waarom er normale groei van eiblaasjes mogelijk is.

Wat kunnen we nu met deze uitkomsten?

Met dit onderzoek hebben we kunnen laten zien dat kleine eiblaasjes, ondanks dat de helpercellen en bindweefsel cellen afwijkend zijn, na terugplaatsing toch in staat zijn om door te groeien naar grotere normale eiblaasjes. Dit is een belangrijke positieve uitkomst. Echter, we beseffen ons dat meisjes met het syndroom van Turner duidelijk minder eiblaasjes hebben in vergelijking met meisjes zonder het syndroom van Turner en dat een groot aantal eiblaasjes verloren gaat tijdens het terugplaatsingsproces. Het is op dit moment onbekend hoeveel eiblaasjes er minimaal in het eierstokweefsel moeten zitten om een goede zwangerschap te kunnen krijgen. We hopen dat in de toekomst nieuwe technieken worden ontwikkeld die het terugplaatsingsproces verder kunnen verbeteren of dat het mogelijk gaat zijn om de kleine eiblaasjes in het laboratorium te laten uitrijpen en te bevruchten (in vitro maturatie).

### 3. Onderzoek naar ervaringen met counseling over invriezen van eierstokweefsel<sup>3</sup>

Wij vinden het erg belangrijk hoe meisjes en ouders de counseling ervaren hebben zodat we dit kunnen verbeteren in de toekomst. De counseling bestond uit drie onderdelen: een algemene informatie avond, de informatie die beschikbaar is op de TurnerFertility website en het persoonlijke counselingsgesprek. We hebben de ervaringen op drie manieren onderzocht:

- We hebben vragenlijsten verspreid onder alle 132 gecounselde gezinnen tot januari 2019. Hiervan hebben we 60 vragenlijsten terug ontvangen.
- We hebben vier groepsinterviews gedaan: met gynaecologen, kinderartsen, ouders van meisjes met Turner syndroom tussen de 2-12 jaar oud en met ouders van meisjes met Turner syndroom tussen de 13 en 18 jaar oud.
- We hebben persoonlijke interviews gedaan met 16 gezinnen van Turner meisjes, waarbij afhankelijk van de leeftijd zowel het meisjes als ook de ouders werden geïnterviewd.

Uit de vragenlijsten kwam naar voren dat 90% van de meisjes en ouders de counseling een toegevoegde waarde vonden op de huidige zorg voor meisjes met Turner syndroom. Het persoonlijke counselingsgesprek werd als meest bijdragend ervaren. Alle antwoorden van de groepsinterviews en persoonlijke interviews zijn verdeeld in onderstaande zes thema's. Niet alle antwoorden zijn op iedereen van toepassing.

#### Informatie

Veel ouders en meisjes gaven aan dat ze voldoende informatie hebben ontvangen om een beslissing te kunnen maken. Zij vonden het belangrijk om informatie te ontvangen over de voor- en nadelen van het invriezen van eierstokweefsel, een inschatting te krijgen van de eicelreserve en over hoe de operatie zou verlopen. Zorgverleners vonden het belangrijk dat meisjes en ouders op de hoogte waren van de risico's, de alternatieve opties van toekomstig ouderschap (inclusief het natuurlijk beloop afwachten) en dat ze voldoende tijd namen om een beslissing te maken.

#### Motivatie

De optie van invriezen van eierstokweefsel gaf veel meisjes en ouders hoop op een zwangerschap in de toekomst. Daarnaast zou het mee doen aan de TurnerFertility studie duidelijkheid geven over of het wel of niet mogelijk was om later zwanger te worden. Als er geen eicellen gevonden werden in

het eierstokweefsel, gaf dat ook duidelijkheid. Velen gaven aan elke mogelijkheid te willen aangrijpen op een kans op een zwangerschap in de toekomst. Daarnaast gaven meisjes aan dat ze mee wilden doen aan de TurnerFertility studie om daarmee in de toekomst ook andere meisjes met Turner te helpen.

Meisjes en ouders die besloten hebben om geen eierstokweefsel in te vriezen gaven aan dat de onzekerheden te groot waren (zoals wat is de kans op het vinden van eicellen, is dit voldoende om later zwanger mee te worden en hoe gaat het herstel). Daarnaast is de vruchtbaarheid bij meisjes met Turner een emotioneel beladen onderwerp wat ook veel psychische stress kan geven. Door het ter sprake brengen van de onvruchtbaarheid kan er opnieuw veel psychische stress veroorzaakt worden. Tevens kan het invriezen van eierstokweefsel een soort van verwachting scheppen dat het meisje op latere leeftijd ook daadwerkelijk gebruik zou moeten maken van het ingevroren weefsel.

#### Factoren van invloed

Er werd aangegeven dat de optie van het invriezen van eierstokweefsel niet aanvoelt als een keuze. Zoals sommige het zeiden: voorheen was er geen kans op een zwangerschap en nu is er misschien wel een kans. De kleine kansen op succes maakte voor sommige meisjes en ouders niet uit. Terwijl anderen deze kansen te laag vonden, in combinatie met een erg risicovolle operatie, en daardoor besloten om niet deel te nemen. Tevens werd er aangegeven dat velen vertrouwen hadden in de zorgverleners en het proces, wat hielp in het maken van de keuze.

#### Omgaan met tijdsdruk

Meisjes en ouders voelden een tijdsdruk om snel een beslissing te maken om twee redenen. Enerzijds omdat ze het gevoel hadden dat de eicelreserve zou op raken. Anderzijds omdat er een beperkt aantal meisjes mochten mee doen aan de studie.

#### Belang van counseling

Zorgverleners vonden het belangrijk om ervoor te zorgen dat meisjes en ouders een realistische kijk hadden op het invriezen van eierstokweefsel. Dit houdt in dat meisjes en ouders dus zorgvuldig de voor- en nadelen zouden afwegen en de onzekerheden en kansen goed konden begrijpen. Daarnaast vonden ze het erg belangrijk dat meisjes en ouders voldoende tijd namen om een weloverwogen beslissing te maken. Zorgverleners hadden soms moeite met het counselen, omdat ze iedereen een gelijke kans wilden geven op het invriezen van eierstokweefsel. Echter, voor sommige meisjes betekende dit ook extra stress omdat het voor hen niet mogelijk was om eierstokweefsel in te vriezen.

#### Samen besluiten

De meeste ouders bezochten de informatieavond samen met hun dochter. Ouders gaven aan dat de mening van het meisje altijd het belangrijkste was, dus als zij niet wilde deelnemen, dan werd dat ook niet gedaan. Alle meisjes voelde zich gesteund in hun keuze, ongeacht wat ze kozen. Sommige ouders van jongere meisjes vonden het lastig in hoeverre hun dochter in staat was om alles goed te begrijpen en daarin een keuze te maken. Alle deelnemers van de persoonlijke interviews gaven aan dat ze nog altijd achter hun keuze staan.

**Bronnen:**

1. Peek R, Schleedoorn MJ, Smeets D, van de Zande G, Groenman F, Braat, DDM, van der Velden AAEM, and Fleischer K. Ovarian follicles of young patients with Turner syndrome contain normal oocytes but monosomic 45,X granulosa cells. *Hum Reprod.* 2019.
2. Nadesapillai S, van der Velden J, Smeets D, van de Zande G, Braat D, Fleischer K, Peek R. Why are some patients with 45,X Turner syndrome fertile? A young girl with classical 45,X Turner syndrome and a cryptic mosaicism in the ovary. *Fertil Steril.* 2020 Dec.
3. van der Coelen S, van der Velden J, Nadesapillai S, Peek R, Braat D, Schleedoorn M, Fleischer K, Oerlemans A. The decision-making process regarding ovarian tissue cryopreservation in girls with Turner syndrome by patients, parents, and healthcare providers: a mixed-methods study. *Horm Res Paediatr.* 2022

**Contact:**

[Turnerfertility@radboudumc.nl](mailto:Turnerfertility@radboudumc.nl)