SUY BUỒNG TRỨNG SỚM

BS. Lê Khắc Tiến[1], BS. Lê Thị Hà Xuyên[2]

[1]IVFMD, [2]IVFMD Phú Nhuận

GIỚI THIỆU

Suy buồng trứng sớm (primary ovarian insufficiency – POI) là một tình trạng lâm sàng phức tạp, còn chưa có sự thống nhất rõ ràng về thuật ngữ và định nghĩa. Từ khi tác giả Fuller Albright và cộng sự mô tả về POI năm 1942, có nhiều bài báo khác nhau được công bố về những vấn đề xung quanh tình trạng này với nhiều thuật ngữ khác nhau như: premature ovarian failure, premature menopause, early menopause, premature ovarian aging,... Để thống nhất về thuật ngữ sử dụng, Viện Sức khỏe Quốc gia Hoa Kỳ (National Institutes of Health – NIH) đã đề xuất sử dụng thuật ngữ primary ovarian insufficiency – POI để mô tả tình trạng trên, và ESHRE cũng đồng thuận với tên gọi này trong khuyến cáo của mình năm 2015. Theo ESHRE, POI là một hội chứng lâm sàng, định nghĩa bởi tình trạng buồng trứng mất chức năng trước năm 40 tuổi, đặc trưng bởi rối loạn kinh nguyệt (kinh thưa hoặc vô kinh) kết hợp với tình trạng tăng gonadotropin và nồng độ estradiol thấp[1]. Theo ước tính, có khoảng 1/250 người nữ dưới 35 và 1/100 người nữ dưới 40 tuổi bị POI. Có hơn 90% số trường hợp POI chưa rõ nguyên nhân, vì vậy, việc điều trị đặc hiệu là hoàn toàn không thể, và các phương pháp điều trị đến thời điểm hiện tại đều là điều trị triệu chứng. Vì POI xảy ra ở độ tuổi sinh sản, vì vậy, câu hỏi làm thế nào để người phụ nữ bị POI có thể có con vẫn là một vấn đề hóc búa trong kỹ thuật hỗ trợ sinh sản.

NGUYÊN NHÂN

Di truyền

Nhiều nghiên cứu cho thấy những đột biến gen trên cả nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính đều có thể gây POI. Những đột biến thường được đề cập bao gồm chuyển đoạn giữa nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể X, hội chứng Turner, trisomy X, đột biến và tiền đột biến (premutation) của những gen liên kết với nhiễm sắc thể X…

Rối loạn di truyền liên quan đến nhiễm sắc thể X

Hội chứng Turner chiếm tỷ lệ khoảng 1/2.500 bé gái được sinh ra. Một trong những đặc điểm của hội chứng Turner là POI. Ở bào thai mang hội chứng này, bắt đầu từ tháng thứ 3 của thai kỳ, quá trình chết theo chương trình của noãn bị đẩy nhanh, và chỉ có 10% phụ nữ có hội chứng Turner có thể có biểu hiện dậy thì, và một số hiếm có thể có thai tự nhiên. Một số gen khác cũng có liên quan đến POI bao gồm Zinc finger X – chromosomal protein (ZFX), ubiquitin specific peptidase 9 X-linked (USP9X) và Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15). Những gen này nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể X (Xp). Một số đột biến cấu trúc khác như thêm hoặc mất đoạn, lặp đoạn, đảo đoạn nhiễm sắc thể X cũng có thể gây POI. Bất thường về số lượng như thể tam nhiễm X cũng có bằng chứng cho thấy có liên quan đến POI. Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy mối liên quan giữa đột

biến dị hợp tử BMP15 và POI. Protein này được mã hóa bởi gen Xp11.2, và khi loại bỏ gen này ở buồng trứng của chuột, người ta thấy có sự phát triển trở lại của nang noãn[2].

Tiền đột biến hội chứng X dễ gãy (fragile X)

Hội chứng X dễ gãy gây ra bởi đột biến gen FMR1 mã hóa protein FMRP. Protein này giúp sản xuất những protein khác, đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của các điểm nối (synapse) thần kinh. Gần như tất cả các đột biến fragile X đều là do lặp đoạn của bộ ba CGG, nằm trên gen FMR1. Bình thường, bộ ba này chỉ được lặp lại từ 5 đến 40 lần. Trên cá thể mang đột biến FMR1, bộ ba này được lặp lại hơn 200 lần. Sự lặp lại này làm gen FMR1 bị bất hoạt, dẫn đến không sản xuất được FMRP. FMRP bị thiếu hụt dẫn đến rối loạn hoạt động của hệ thần kinh, đưa đến các biểu hiện của hội chứng X dễ gãy. Những cá thể mà bộ ba CGG chỉ lặp lại từ 55 đến 200 lần được gọi là cá thể mang tiền đột biến fragile X. Vì một lý do chưa biết rõ, các tiền đột biến FMR1 lại dẫn đến sự sản xuất quá mức mRNA dịch mã cho FMRP có chứa vùng lặp lại kể trên. Người ta cho rằng sự sản xuất quá mức này sẽ khiến các mRNA gắn kết vào các protein khác, khiến các protein này bị bất hoạt[3]. Bên cạnh POI, các cá thể này có thể có biểu hiện thể nhẹ của hội chứng X dễ gãy hoặc có thể có các biểu hiện trầm cảm hoặc lo âu hoặc những biểu hiện hành vi tương tự như tự kỷ (autism-like), do sự sản xuất của FMRP bị giảm đi[4].

Các nguyên nhân khác

Không chỉ những đột biến trên nhiễm sắc thể X mà những đột biến trên nhiễm sắc thể thường cũng có thể gây POI, bao gồm: đột biến thụ thể FSH và LH, galactosemia, Forkhead Box protein L2 (FOXL2), Newborn ovary homeobox gene (NOBOX), Growth/differentiation factor 9 (GDF9), Splicing factor 1(SF1), Inhibin alpha (INHA), … (Hình 1). Đây là các gen có liên quan đến sự chiêu mộ sơ cấp nang noãn (NOBOX), sự chế tiết FSH (INHA) hoặc sự biệt hóa tế bào hạt (FOXL2).

Thiếu hụt enzym và protein có liên quan đến quá trình sản xuất steroid sinh dục, ví dụ 17α-hydroxylase và aromatase cũng có liên quan đến POI.

Các bệnh lý tự miễn chiếm 15 – 20% nguyên nhân gây POI. Các bệnh này bao gồm: bệnh Addison, bạch biến, nhược cơ, hội chứng Sjögren, lupus ban đỏ hệ thống, bệnh celiac,…

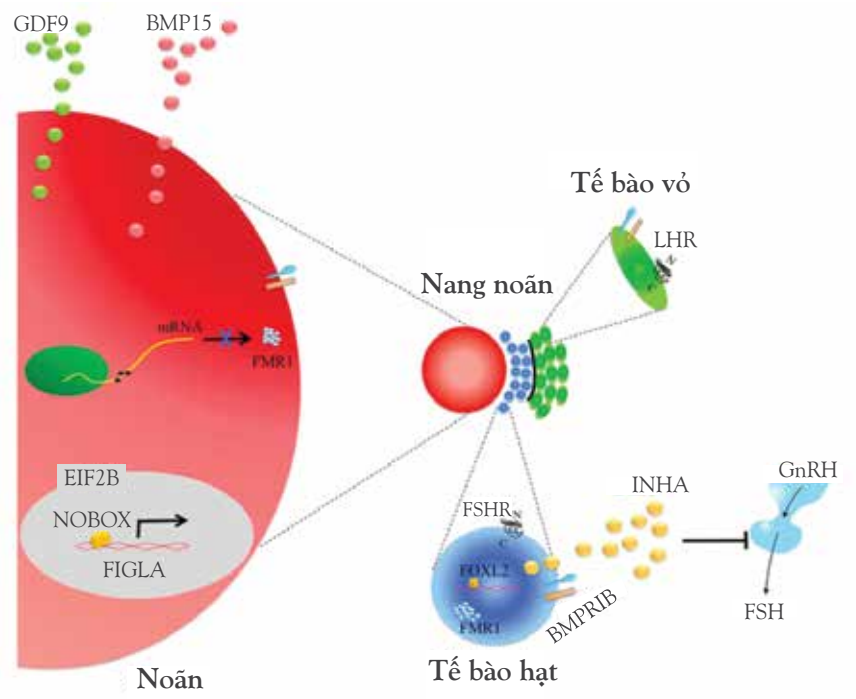
Một số báo cáo đơn lẻ cho thấy có mối liên quan giữa tiêm ngừa vaccine HPV, nhiễm CMV, varicella zoster và POI, tuy nhiên, đây là những nghiên cứu nhỏ lẻ và chưa đủ chứng cứ để đưa ra kết luận cuối cùng[2].

Nhiều tài liệu cho thấy hóa trị hoặc xạ trị ung thư có thể gây POI. Hóa trị có thể gây chết tế bào theo chương trình của đoàn hệ nang nguyên phát, tổn thương vỏ mô buồng trứng, tăng quá trình thoái hóa nang noãn. Các nhóm thuốc hóa trị có thể gây độc trên buồng trứng được liệt kê trong Bảng 1. Hầu hết các hóa chất gây độc mạnh nhất đến sinh sản đều thuộc nhóm tác nhân alkyl hóa[5]. Chính vì vậy, bệnh nhân ung thư trước khi điều trị hóa xạ trị nên được tư vấn kỹ lưỡng về những tác hại có thể có lên khả năng sinh sản, đặc biệt là ở những bệnh nhân trẻ tuổi, chưa có con (Hình 1).

Yếu tố môi trường: một số báo cáo cho thấy có mối liên quan giữa hút thuốc lá và độ tuổi mãn kinh tự nhiên, và cũng có thể là nguyên nhân của POI. Thành phần trong thuốc lá có chứa nhiều hydrocarbon thơm đa vòng (PAH), còn tế bào hạt và noãn chứa thụ thể với PAH. Sự gắn kết giữa PAH và thụ thể sẽ kích hoạt gen BAX (Bcl-2-associated X protein), làm khởi động quá trình chết theo chương trình của noãn. Bên cạnh thuốc lá, khói (do đốt nhiên liệu hóa thạch), dioxin cũng chứa PAH[6] (Bảng 1).

CHẨN ĐOÁN

Để chẩn đoán xác định POI, cần có 2 tiêu chuẩn: (i) kinh thưa/vô kinh trong ít nhất 4 tháng liên tục và (ii) nồng độ FSH huyết thanh > 25 mIU/mL, được đo tại hai thời điểm cách nhau ít nhất 4 tuần[1].



Hình 1. Các gen có liên quan đến cơ chế bệnh sinh của POI.

Khi chẩn đoán một trường hợp POI, cần phân biệt rõ ràng với chẩn đoán giảm dự trữ buồng trứng (diminished ovarian reserve – DOR), vì tiên lượng bệnh khác nhau. Giảm dự trữ buồng trứng đặc trưng bởi chu kỳ kinh nguyệt đều và có sự giảm sút về các xét nghiệm đánh giá dự trữ buồng trứng (xét nghiệm nội tiết cơ bản, AMH hoặc AFC). Phụ nữ đơn thuần có giảm dự trữ buồng trứng vẫn có khả năng mang thai tự nhiên dù không cao, tuy nhiên, thường có liên quan đến các kết cục xấu sau điều trị thụ tinh trong ống nghiệm (ít/ không trứng/ phôi, giảm tỷ lệ làm tổ, giảm tỷ lệ thai, tăng tỷ lệ sẩy thai,…)[1,7]. Phụ nữ POI, bên cạnh những tác động đến khả năng sinh sản, còn có những ảnh hưởng lâu dài đến sức khỏe do tình trạng thiếu hụt estrogen kéo dài gây ra.

Trong trường hợp chẩn đoán nguyên nhân, bệnh nhân nên thực hiện các xét nghiệm di truyền, tùy điều kiện và khả năng của bệnh nhân và trung tâm như: nhiễm sắc thể đồ, đột biến SRY, xét nghiệm tiền đột biến fragile X. ESHRE không khuyến cáo thực hiện các xét nghiệm tìm đột biến trên nhiễm sắc thể thường một cách thường quy trên tất cả các bệnh nhân POI. Trong trường hợp POI chưa loại trừ nguyên nhân do các bệnh lý tự miễn, các xét nghiệm đánh giá autoimmune polyendocrine syndrome, tự kháng thể tế bào steroid như tự kháng thể 21-hydroxylase (21OH-Ab), kháng thể kháng giáp (TPO-Ab) nên được thực hiện. Trong trường hợp có bất thường về các xét nghiệm miễn dịch hay bệnh lý tự miễn, bệnh nhân nên được hướng dẫn đến khám bác sĩ nội tiết[1].

CÁC HƯỚNG ĐIỀU TRỊ HIỆN TẠI TRÊN BỆNH NHÂN MONG CON

Bởi vì tính chất phức tạp của POI, hiện tại vẫn chưa có một phương pháp điều trị hiệu quả trên nhóm bệnh nhân này. Những phương pháp điều trị hiện tại bao gồm cải thiện chất lượng cuộc sống và xin noãn để mang thai với kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm.

Theo một phân tích trên 358 phụ nữ được chẩn đoán POI chưa rõ nguyên nhân, trong vòng 1 năm sau khi được chẩn đoán POI, có tới 25%

Bảng 1. Các nhóm thuốc hóa trị và mức độ gây tổn thương trên buồng trứng.

Thuốc	Nhóm
Chắc chắn gây tổn thương buồng trứng	
– Nitrogen mustard	Mechlorethamine (Tác nhân alkyl hóa)
– L-phenylalanine mustard	Mechlorethamine (Tác nhân alkyl hóa)
– Chlorambucil	Mechlorethamine (Tác nhân alkyl hóa)
– Cydophoaphamide	Mechlorethamine (Tác nhân alkyl hóa)
– Melphalan	Mechlorethamine (Tác nhân alkyl hóa)
– Busulfan	Alkylalkane sulfonate
– Procarbazine	Substituted hydrazine
– Dacarbazine	Tác nhân alkyl hóa
– Doxorubicin	Anthracydine
Có thể gây tổn thương buồng trứng	
– Vinblastine	Vinca alkaloid
– Cytosine arabinoside (Ara-C)	Độc tế bào (Antimetabolite)
– Cis-platinum	Kim loại nặng
– Carmustine	Nitrosourea (Tác nhân alkyl hóa)
– Lomustine	Nitrosourea (Tác nhân alkyl hóa)
– vP-16 (etoposide)	Podophyllotoxin
– Imatinib	Chất ức chế Tyrosine Kinase
Khả năng tổn thương buồng trứng thấp	
– Methotrexate	Độc tế bào (Antimetabolite)
– Fluorouracil (5-FU)	Độc tế bào (Antimetabolite)
– 6-mercaptopurine	Độc tế bào (Antimetabolite)
– Vincristine	Vinca alkaloid
– Mitomycin	Kháng sinh (Tác nhân alkyl hóa)
Không rõ	
– vM-26	Podophyllotoxin
– Bleomycin	Peptide
– Daunorubicin	Anthracydine
– Melphalan	Chloroethylamine
– Decarbazine	Substituted hydrazine
– Vindesine	Vinca alkaloid

có dấu hiệu hoạt động trở lại của buồng trứng, biểu hiện bằng ít nhất 2 lần hành kinh liên tục hoặc có thai. Có thai tự nhiên được ghi nhận ở 4,8% các trường hợp. Các yếu tố tiên đoán cho khả năng có thai tự nhiên sau khi được chẩn đoán POI bao gồm nồng độ estradiol, inhibin B, và sự hiện diện của nang thứ cấp trên siêu âm; nồng độ AMH không có liên quan đến tiên lượng có thai trên phụ nữ POI[8].

Nhiều phương pháp điều trị được thử nghiệm như bổ sung estrogen, gonadotrophin, hay corticoid với hy vọng phục hồi khả năng có thai tự nhiên. Mặc dù một số thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có nhóm chứng cho thấy có thể có cải thiện khả năng phóng noãn trở lại khi dùng ethinylestradiol so với giả dược (4/25 so với 0/25 trường hợp, $p < 0,005$[9]) hay dexamethasone so với giả dược (6/29 so với 3/29 trường hợp, $p = 0,002$[10]), tuy nhiên, cỡ mẫu nhỏ và những chứng cứ chưa đủ mạnh để có thể đưa ra một khuyến cáo. Trong hướng dẫn về POI, ESHRE nhận định không có phương pháp điều trị nào làm tăng tỷ lệ có thai tự nhiên trên nhóm bệnh nhân POI (khuyến cáo mức độ A)[1].

Xin noãn là phương pháp hiệu quả nhất đối với những phụ nữ POI mong con. Trường hợp mang thai thành công đầu tiên sau xin noãn được báo cáo năm 1984[11], kể từ đó, xin noãn trở thành hướng điều trị được áp dụng nhiều nhất đối với nhóm bệnh nhân POI mong con. Tuy nhiên, những biến chứng trong quá trình mang thai ở bệnh nhân POI như các bệnh lý tăng huyết áp thai kỳ, tiền sản giật, sẩy thai, băng huyết sau sinh, thai chậm tăng trưởng trong tử cung… được ghi nhận tăng tần suất ở nhóm bệnh nhân POI so với dân số chung. Vì vậy, quá trình theo dõi và chăm sóc sau khi mang thai ở nhóm bệnh nhân POI cũng là một vấn đề lớn cần được quan tâm.

Bên cạnh việc điều trị trên nhóm bệnh nhân mong con, những điều trị giúp cải thiện chất lượng cuộc sống và ngăn ngừa các biến chứng do việc thiếu hụt nội tiết trên nhóm bệnh nhân POI cũng được khuyến cáo trong rất nhiều hướng dẫn về liệu pháp hormone thay thế của ACOG và ESHRE[1].

CÁC HƯỚNG ĐI TIỀM NĂNG TRONG TƯƠNG LAI

Tế bào gốc

Tế bào gốc trong thời gian gần đây nổi lên như một phương thức điều trị tiềm năng trong rất nhiều lĩnh vực. Người ta hy vọng có thể thu được những noãn trưởng thành và có tiềm năng từ những nang noãn ít ỏi còn lại trong buồng trứng ở những phụ nữ POI sau khi điều trị với tế bào gốc.

Trong một nghiên cứu năm 2018, trên chuột bị suy buồng trứng, việc truyền tế bào gốc từ tủy xương giúp tăng trọng lượng buồng trứng và số mạch máu nuôi đến mô buồng trứng, giảm quá trình apoptosis và tăng số lượng nang có hốc, số lượng noãn MII và noãn thụ tinh so với nhóm chứng. Trên nhóm chuột điều trị bằng tế bào gốc, nhóm nghiên cứu ghi nhận 3 trường hợp có thai[12]. Bên cạnh tế bào gốc từ tủy xương, rất nhiều dòng tế bào gốc đã được thử nghiệm như tế bào gốc có nguồn gốc từ phôi thai (embryonic stem cell – ESCs), tế bào gốc trung mô (mesechymal stem cells – MSCs), tế bào gốc vạn năng cảm ứng (induced pluripotent stem cells – iPSCs),… Những thử nghiệm này hầu hết mới chỉ được thực hiện trên chuột và kết quả vẫn còn khác nhau giữa các nghiên cứu[13]. Một trong những mối quan ngại khiến các thử nghiệm này vẫn chưa được thực hiện trên người là tính an toàn của nó. Một số thử nghiệm trên chuột cho thấy những biến đổi bất thường về thượng di truyền và giảm phân ở những tế bào được phân chia từ tế bào gốc. Một số thử nghiệm cũng cho thấy khả năng tạo thành khối u khi sử dụng tế bào gốc[14].

Vì vậy, mặc dù được nhận định là một hướng đi tiềm năng, nhưng vì cơ chế chưa được hiểu rõ, cũng như tính an toàn chưa được chứng minh, nên sẽ cần nhiều thời gian và nghiên cứu nữa trước khi tế bào gốc được ứng dụng trên những phụ nữ POI.

Hoạt hóa noãn trong ống nghiệm (In vitro activation – IVA)

Hoạt hóa noãn nguyên thủy là quá trình mà các nang noãn nguyên thủy từ tình trạng ngủ yên đi vào quá trình chiêu mộ. Chỉ một vài nang noãn sau quá trình chiêu mộ được "sử dụng", hầu hết đi vào quá trình thoái hóa. Hoạt hóa noãn trong ống nghiệm (In vitro activation – IVA) được cho là một hướng đi tiềm năng mới cho những bệnh nhân POI. IVA hoạt động dựa trên các tín hiệu điều hòa như tín hiệu Hippo và phosphatase, tensin homolog (PTEN)/phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/forkhead box O3 (FOXO3). Việc tìm ra được các con đường truyền tín hiệu này giúp các nhà khoa học có thể kích hoạt các nang noãn nguyên thủy đi vào quá trình chiêu mộ. IVA đã được áp dụng thành công trên một số bệnh nhân POI, những người chỉ còn lại một số lượng ít ỏi nang noãn nguyên thủy trên buồng trứng. IVA cũng là một phương pháp tiềm năng trong bảo tồn khả năng sinh sản cho những bệnh nhân ung thư trẻ tuổi, chưa dậy thì. Tính đến năm 2019, đã có hơn 10 em bé sinh sống sau phương pháp này được báo cáo[13]. Nghiên cứu đầu tiên được thực hiện bởi Kawamura và cộng sự. Trong nghiên cứu này, phụ nữ POI được mổ nội soi để cắt một phần vỏ mô buồng trứng, những mô này sau đó được cắt thành những mẫu mô nhỏ hơn (1 x 1 cm^2, dày 1 – 2 mm). Sau đó các nhà khoa học sẽ tiến hành nhuộm một số mẫu mô để xác định có noãn nguyên thủy hay không, những mẫu mô còn lại được trữ đông. Sau khi xác định được mẫu mô buồng trứng đó còn tồn tại noãn nguyên thủy, những mẫu mô còn lại sẽ được rã đông và tiếp tục cắt nhỏ thành những mẫu có kích thước 1 – 2 mm^2, rồi cho vào môi trường IVA trong 48 giờ, sau đó các mẫu mô này được rửa sạch và cấy vào lớp thanh mạc của ống dẫn trứng[16].

Mặc dù được kỳ vọng là một trong những phương thức điều trị mới cho bệnh nhân POI, một trong những rào cản khiến IVA chưa được áp dụng rộng rãi đó là tỷ lệ thành công còn thấp, khoảng 9%, so với 5% ở những phụ nữ POI không điều trị và có thai tự nhiên. Bên cạnh đó, mối lo ngại về IVA có thể gây ung thư khiến phương pháp mới chỉ được thực hiện rất dè chừng trong một số nghiên cứu dưới sự cho phép và giám sát chặt của hội đồng đạo đức nghiên cứu[15].

Như vậy, mặc dù vẫn chưa có phương pháp nào chứng minh được tính hiệu quả và an toàn cho bệnh nhân POI, những hướng đi mới kể trên cũng mở ra hy vọng cho những phụ nữ này, và hy vọng trong thời gian tới sẽ có thêm những bước tiến mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. POI Guideline Development Group Management of women with premature ovarian insufficiency. <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Management-of-premature-ovarian-insufficiency.aspx>.
2. Sheikhansari G, Aghebati-Maleki L, Nouri M và cộng sự. (2018). Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. Biomedicine & Pharmacotherapy, 102, 254–262.
3. FXPOI. Genetics Home Reference, <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/fragile-x-associated-primary-ovarian-insufficiency>, accessed: 11/10/2019.
4. Fragile X syndrome. Genetics Home Reference, <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/fragile-x-syndrome>, accessed: 11/10/2019.
5. Tiến LK và Hồ LL. Ảnh hưởng của điều trị ung thư đối với hệ sinh sản và bảo tồn khả năng sinh sản ở phụ nữ. Y học sinh sản, 47, 27–30.
6. Matikainen T., Perez G.I., Jurisicova A. và cộng sự. (2001). Aromatic hydrocarbon receptor-driven Bax gene expression is required for premature ovarian failure caused by biohazardous environmental chemicals. Nat Genet, 28(4), 355–360.
7. Lyttle Schumacher B.M., Jukic A.M.Z., và Steiner A.Z. (2018). Antimüllerian hormone as a risk factor for miscarriage in naturally conceived pregnancies. Fertil Steril, 109(6), 1065-1071.e1.
8. Bidet M, Bachelot A, Bissauge E. và cộng sự. (2011). Resumption of ovarian function and pregnancies in 358 patients with premature ovarian failure. J Clin Endocrinol Metab, 96(12), 3864–3872.
9. Tartagni M, Cicinelli E., De Pergola G. và cộng sự. (2007). Effects of pretreatment with estrogens on ovarian stimulation with gonadotropins in women with premature ovarian failure: a randomized, placebo-controlled trial. Fertil Steril, 87(4), 858–861.
10. Badawy A, Goda H, và Ragab A (2007). Induction of ovulation in idiopathic premature ovarian failure: a randomized double-blind trial. Reproductive BioMedicine Online, 15(2), 215–219.
11. Lutjen P, Trounson A, Leeton J và cộng sự. (1984). The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. Nature, 307(5947), 174–175.
12. Herraiz S, Buigues A, Díaz-García C và cộng sự. (2018). Fertility rescue and ovarian follicle growth promotion by bone marrow stem cell infusion. Fertil Steril, 109(5), 908-918.e2.
13. Sheikhansari G, Aghebati-Maleki L, Nouri M và cộng sự. (2018). Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. Biomed Pharmacother, 102, 254–262.
14. Bates GW (2018). Is hope on the horizon for premature ovarian insufficiency? Fertility and Sterility, 109(5), 800–801.
15. Lee HN và Chang EM (2019). Primordial follicle activation as new treatment for primary ovarian insufficiency. Clin Exp Reprod Med, 46(2), 43–49.
16. Suzuki N, Yoshioka N, Takae S và cộng sự. (2015). Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. Hum Reprod, 30(3), 608–615.