

CẬP NHẬT KỸ THUẬT TRƯỞNG THÀNH NOÃN TRONG ống NGHIỆM: SINH LÝ VÀ ỨNG DỤNG LÂM SÀNG

BS. Trương Đăng Phúc, BS. Hồ Ngọc Anh Vũ

Bệnh viện Mỹ Đức

Trưởng thành noãn trong ống nghiệm (IVM – in vitro maturation) là một kỹ thuật tồn tại gần một thế kỷ, được mô tả lần đầu trên thỏ năm 1935 và trên người vào năm 1944 bởi Rock và Menkin^[1]. Hiện nay, IVM được áp dụng chủ yếu để điều trị hỗ trợ sinh sản ở phụ nữ có hội chứng buồng trứng đa nang, phụ nữ có hội chứng đề kháng gonadotropin và bảo tồn khả năng sinh sản ở bệnh nhân ung thư. IVM đem lại nhiều lợi ích đối với bệnh nhân như: không tiêm hay tiêm thuốc rất ít, không cần theo dõi nhiều, giảm thời gian điều trị và chi phí điều trị, loại bỏ nguy cơ hội chứng quá kích buồng trứng (OHSS – Ovarian hyperstimulation syndrome); từ đó, tăng tính an toàn và thân thiện trong điều trị cho người bệnh.

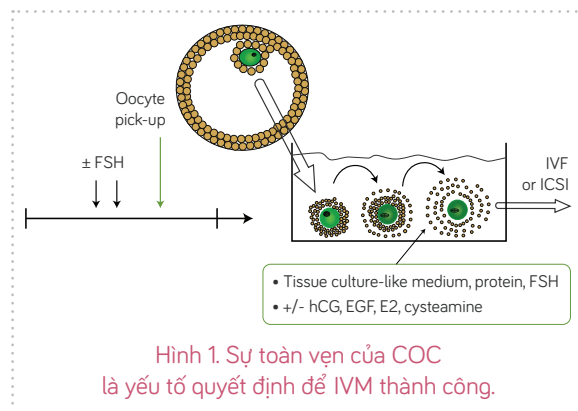
SINH LÝ TRƯỞNG THÀNH NOÃN VÀ NGUYÊN TẮC CƠ BẢN CỦA IVM

Vai trò của bảo toàn sự toàn vẹn của khối tế bào quanh noãn – noãn (COCs – cumulus – oocyte complexes)

Quy trình IVM bao gồm: thu thập những noãn chưa trưởng thành ở giai đoạn GV và nuôi cấy trưởng thành noãn đến giai đoạn trung kỳ giảm phân II (MII), đồng thời đảm bảo sự nguyên vẹn của phức hợp tế bào quanh noãn – noãn (COCs). Sự toàn vẹn của COCs là nền tảng thành công của IVM; trong đó, tế

bào cumulus (CCs) có vai trò là tế bào sinh dưỡng hỗ trợ sự phát triển và trưởng thành của noãn. COC là một mạng lưới tế bào phức tạp, 3 chiều, bao gồm tế bào mầm và tế bào soma, được xây dựng xung quanh một mạng lưới phức tạp các liên kết xuyên màng trong suốt (TZPs – transzonal projections). TZPs giúp trao đổi các vi chất chuyển hóa, các phân tử điều hòa quan trọng như cAMP/cGMP, cho phép CC cung cấp mRNA cho noãn (Hình 1).

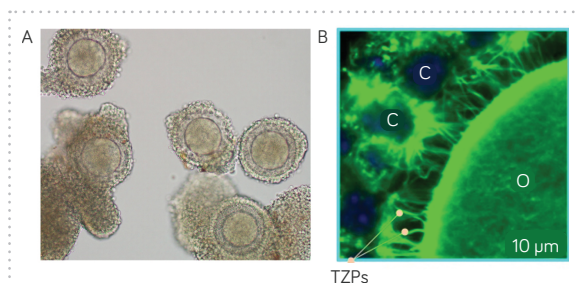
Loại bỏ COC khỏi nang noãn làm tổn thương và phá hủy các mạng lưới truyền tín hiệu giữa tế bào hạt–noãn qua TZP và GJC, làm suy yếu khả năng phát triển của noãn. Việc duy trì tín hiệu giữa tế bào hạt và noãn sau chọc hút có thể tiến hành bằng cách ức chế giảm phân, ngăn chặn phá vỡ túi mầm (GVBD – GV breakdown), duy trì mạng lưới TZP/GJC bằng cAMP và/hoặc cGMP để ngăn chặn sự hoạt hóa 3 – alpha – phosphodi-



Hình 1. Sự toàn vẹn của COC là yếu tố quyết định để IVM thành công.

esterase của noãn, ngăn GVBD sớm. Do đó, bảo tồn được mạng lưới kết nối tế bào hạt – noãn, đây là nền tảng cơ bản của IVM 2 pha.

Ở phác đồ IVM không môi hCG trước đây (standard IVM), COCs được nuôi cấy trưởng thành trong môi trường có protein, FSH, hCG, EGF, estradiol,... mà không có sự toàn vẹn của khối tế bào quanh noãn, thiếu sự đồng bộ trong trưởng thành nhân và tế bào chất (Hình 2). Môi trường nuôi cấy này không sinh lý vì noãn từ các nang > 6 mm trưởng thành tự phát trong ống nghiệm mà không có tín hiệu phù hợp như noãn trong cơ thể. Điều này có thể gây ảnh hưởng lên kết cục thai ở các chu kỳ này.



Hình 2.

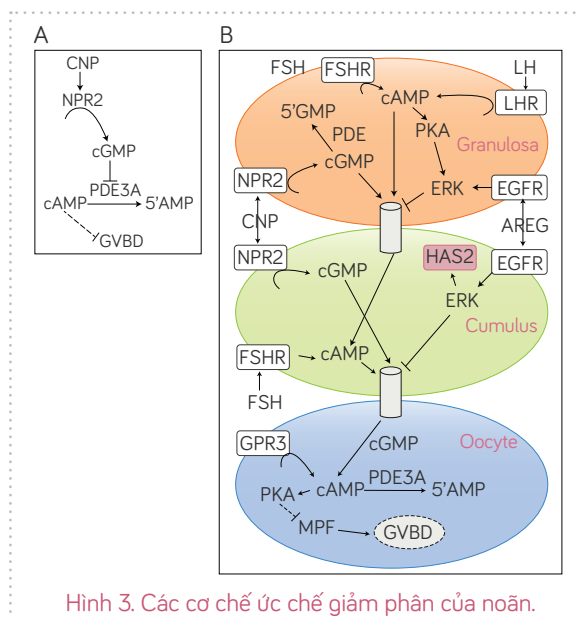
(A) Phức hợp tế bào quanh noãn - noãn (COCs); (B) Hình ảnh mạng lưới phức tạp của các phức hợp liên kết xuyên màng kéo dài từ các tế bào hạt đến noãn bào.

Các thách thức sinh học chủ yếu của IVM và giải pháp

– Noãn từ các nang có hóc nhỏ chưa phát triển hoàn toàn: có thể dùng FSH ngoại sinh giúp trưởng thành noãn trong cơ thể. Tuy nhiên, cần dữ liệu từ các nghiên cứu thiết kế chặt chẽ để kiểm chứng điều này. Hiện tại, chúng tôi đang tiến hành một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng so sánh hiệu quả của môi so với không môi FSH ở các chu kỳ điều trị IVM.

– Noãn thường trưởng thành tự phát sau khi bị lấy ra khỏi nang: dùng các chất ức chế giảm phân ngăn chặn quá trình trưởng thành tự phát của noãn.

– Noãn trưởng thành trong ống nghiệm không được tiếp xúc đầy đủ với dòng thác tín hiệu từ buồng trứng như quá trình trưởng thành tự nhiên trong cơ thể. Natriuretic peptide type – c (CNP) là chất ức chế trưởng thành noãn từ tế bào hạt; CNP kiểm soát tổng hợp cGMP ở tế bào hạt, thông qua đó ức chế phosphodiesterase, điều hòa AMP vòng trong noãn cũng như GVBD (Hình 3A); LH không tác động trực tiếp lên COCs mà hoạt hóa dòng thác các yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFp) trong trưởng thành noãn (Hình 3B).



Hình 3. Các cơ chế ức chế giảm phân của noãn.

SỰ PHÁT TRIỂN CỦA IVM

Tiến bộ quan trọng nhất trong kỹ thuật IVM là hệ thống nuôi cấy 2 pha (biphasic IVM system – CAPA IVM) được nghiên cứu trong nhiều năm và chính thức công bố kết quả áp dụng năm 2020. Hệ thống này gồm hai pha:

- Pha 1: ức chế giảm phân bằng CNP.
- Pha 2: kích hoạt quá trình giảm phân giúp giải quyết đồng thời các thách thức sinh học của IVM.

Hệ thống nuôi cấy 2 pha giải quyết phần lớn các thách thức sinh học của IVM bằng cách ngăn chặn quá trình giảm phân tự phát của noãn sau chọc hút và bảo tồn mạng lưới

TZP/GJC. Bổ sung CNP vào pha 1 khi noãn đang trong quá trình phiên mã, từ đó hoàn thiện sự đồng bộ trường thành nhân và tế bào chất của noãn trước khi giảm phân hoàn thành ở pha 2 giúp giải quyết thách thức đầu tiên của IVM. Các giả thuyết hiện tại cho rằng hệ thống IVM 2 pha đem lại hướng tiếp cận sinh lý hơn, bảo vệ mạng lưới GJC ở giai đoạn túi mầm.

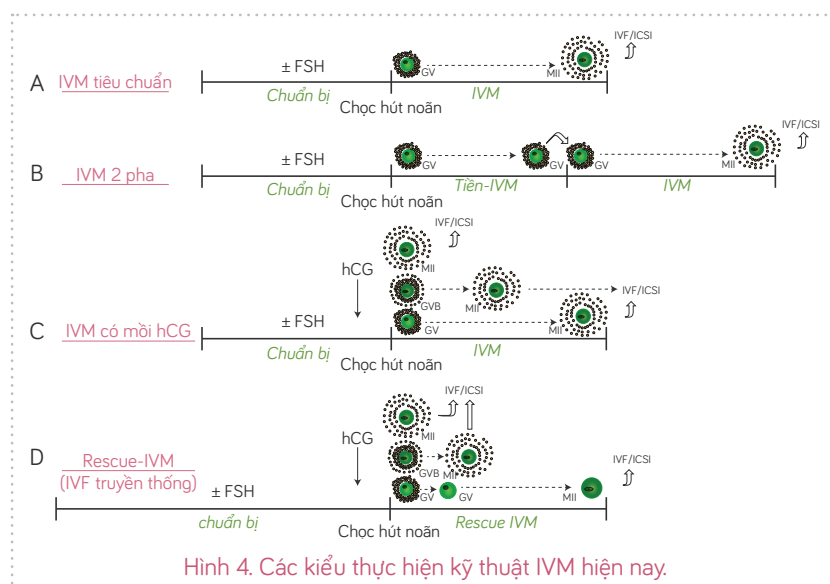
ỨNG DỤNG IVM TRÊN LÂM SÀNG IVM trong hội chứng buồng trứng đa nang

Noãn thu được từ các nang có hốc nhỏ, với đường kính 2 – 10 mm. Đây là kích thước noãn lý tưởng cho IVM. Trên thực tế, khoảng 80% nang noãn ở buồng trứng các phụ nữ hội chứng buồng trứng đa nang có đường kính < 6 mm khi được chọc hút. Mỗi FSH trước khi thu thập noãn vì các nang noãn nhỏ (2 – 6 mm) biểu hiện nhiều thụ thể FSH, và FSH tăng cường sự phát triển của nang noãn cũng như tăng tổng hợp estradiol. Mỗi hCG chỉ có lợi cho COC từ các nang noãn lớn khi thụ thể LH được biểu hiện trên tế bào hạt. Khi hCG kích hoạt các tín hiệu không phù hợp trên các noãn có tế bào chất chưa trưởng thành có thể gây tổn hại tới sự phát triển noãn, cắt đứt các mạng lưới TZP và GJC. Mỗi hCG

trong hội chứng buồng trứng đa nang không có hiệu quả đáng kể ở các bệnh nhân không được dùng FSH trước đó, tỷ lệ thai lâm sàng mỗi chu kỳ chỉ khoảng 26% sau chuyển 2 – 4 phôi. Đáng chú ý, khi dùng FSH liều thấp đơn độc ở các bệnh nhân hội chứng buồng trứng đa nang, tỷ lệ thai lâm sàng khoảng 39,7% với lượng phôi chuyển thấp hơn (1 – 2 phôi). Khi kết hợp mỗi FSH và hCG ở bệnh nhân hội chứng buồng trứng đa nang, tỷ lệ thai lâm sàng là 38,8% khi chuyển 2 – 4 phôi. Không ghi nhận số lượng phôi thu được hay tỷ lệ thai lâm sàng được cải thiện ở nhóm mỗi hCG khi thực hiện IVM. Một nghiên cứu trên bệnh nhân hội chứng buồng trứng đa nang chứng minh áp dụng hệ thống IVM 2 pha thu được nhiều noãn trưởng thành hơn IVM tiêu chuẩn, đặc biệt ở các nang noãn ≤ 6 mm, từ đó tăng gấp đôi lượng phôi có thể chuyển cho bệnh nhân, tăng số phôi chất lượng tốt, tăng tỷ lệ có thai.^[14]

Áp dụng IVM ở bệnh nhân mắc hội chứng buồng trứng đề kháng gonadotropins hoặc bất thường trong giảm phân

Với những bệnh nhân đề kháng FSH nội sinh và ngoại sinh, các nang noãn hiếm khi phát triển xa hơn giai đoạn nang có hốc nhỏ. Nguyên nhân có thể do bất thường di truyền hoặc tự miễn. Trước khi IVM được áp dụng cho nhóm bệnh nhân này, phương án duy nhất khi điều trị hỗ trợ sinh sản là xin noãn. Tuy nhiên, nhờ IVM, tới nay đã có nhiều hơn 10 trẻ khỏe mạnh được sinh ra nhờ kỹ thuật IVM ở các bệnh nhân này. Điều này



Hình 4. Các kiểu thực hiện kỹ thuật IVM hiện nay.

có ý nghĩa đặc biệt vì giúp mang lại cơ hội làm mẹ di truyền cho bệnh nhân, nhất là ở các quốc gia không cho phép xin noãn^[2].

Bên cạnh đó, trong thực hành lâm sàng cũng có nhiều trường hợp không thu được noãn MII. Những bệnh nhân này có sinh lý bệnh không rõ ràng nhưng thường có bất thường di truyền, dẫn đến không thể vượt qua ỨC chế giảm phân. Do đó, IVM có thể được chỉ định cho nhóm bệnh nhân này.

IVM nhằm bảo tồn khả năng sinh sản ở bệnh nhân ung thư

Để bảo tồn khả năng sinh sản cho bệnh nhân ung thư, có thể phẫu thuật lấy mô buồng trứng để trữ hoặc chọc hút noãn non qua ngả âm đạo. So với các hệ thống IVM trước đây, một nghiên cứu gần đây cho thấy kỹ thuật CAPA – IVM có tỷ lệ trưởng thành noãn cao hơn IVM tiêu chuẩn, cũng như tỷ lệ hình thành phôi nang. Do đó, có thể được áp dụng đầu tay cho nhóm bệnh nhân này vì ít tốn thời gian, không tăng nồng độ estradiol phi sinh lý, chi phí thấp, có thể điều trị song hành với các mô thức điều trị ung thư khác.

Trưởng thành noãn non như điều trị bổ sung cho các chu kỳ thụ tinh ống nghiệm (IVF)

Các báo cáo gần đây về IVF/M chu kỳ tự nhiên^[3] ở các phụ nữ Trung Quốc trẻ tuổi cho thấy phần lớn các COCs từ các nang noãn ($8,3 \pm 4,8$ noãn) có khả năng phát triển thành phôi bình thường. Sau khi chuyển $2,8 \pm 0,8$ phôi, tỷ lệ thai lâm sàng mỗi chu kỳ chuyển phôi là 34,5% và tỷ lệ sảy thai là 27%. Nghiên cứu khác cũng ghi nhận tiềm năng phát triển thành phôi tốt và trẻ sinh ra không có sự khác biệt về tỷ lệ dị tật bẩm sinh so với trẻ sinh từ nang noãn vượt trội. Thu thập COCs từ nang noãn nhỏ có tỷ lệ trẻ sinh sống là 12,8% trong các trường hợp không

tìm thấy noãn trong các nang vượt trội (hội chứng nang trứng trống).

Trưởng thành các noãn non như một điều trị bổ sung cho IVF có kích thích buồng trứng

Trong phác đồ IVF thường quy, kích thích buồng trứng bằng gonadotropins được tiến hành trong 7 – 12 ngày, sau đó khởi động trưởng thành noãn bằng hCG hoặc GnRH đồng vận. Các noãn thu được sau 36 giờ có mức độ trưởng thành khác nhau (MII, MI, GV). Tỷ lệ noãn không trưởng thành thường < 15%. Đôi khi tỷ lệ noãn không trưởng thành cao khiến các nhà phôi học lựa chọn “rescue – culture” các noãn GV. Phân tích nhiễm sắc thể của noãn không trưởng thành sau kích thích buồng trứng ghi nhận tần suất lệch bội cao, cũng như bất thường tế bào chất và gen rõ rệt. Do đó, rescue IVM ở người còn bị hoài nghi về ứng dụng lâm sàng và tính an toàn.

IVM ở các bệnh nhân có phóng noãn

SauerbrunCutler và cộng sự^[4] đã nghiên cứu IVM (có môi FSH) trên 1026 phụ nữ có chu kỳ kinh nguyệt bình thường, AFC và AMH bình thường. Kết quả ghi nhận tỷ lệ noãn thu được thấp hơn (4 – 12 noãn). Lượng noãn thu được thấp hơn so với bệnh nhân có hội chứng buồng trứng đa nang, số phôi chuyển được thấp hơn; dẫn tới tỷ lệ thai lâm sàng thấp hơn mỗi chu kỳ (15,1% – 26,4%) sau khi chuyển 2 – 3 phôi. Mặc dù tỷ lệ mang thai từ IVM ở bệnh nhân có phóng noãn bình thường còn thấp (15 – 30%), hy vọng các tiến bộ trong công nghệ nuôi cấy có thể khuyến khích bệnh nhân rối loạn đông máu, bệnh nhân có nguy cơ tăng đông cao, đã từng thất bại với IVF không rõ nguyên nhân, hiến noãn hoặc các phụ nữ khỏe mạnh muốn trữ noãn lựa chọn IVM với ưu điểm về sự thân thiện và tính an toàn của phương pháp này.

IVM ở bệnh nhân không phóng noãn có kế hoạch gây phóng noãn kết hợp bơm tinh trùng vào buồng tử cung (OI – IUI)

OI/OI – IUI có thể được chỉ định cho bệnh nhân hội chứng buồng trứng đa nang 3 – 6 chu kỳ sử dụng letrozole (đầu tay) hoặc clomiphene citrate. Những bệnh nhân thất bại điều trị gây phóng noãn với thuốc uống có thể được chuyển sang gonadotropins. Gây phóng noãn bằng FSH cho hiệu quả thụ thai cao hơn so với clomiphene citrate ở các bệnh nhân rối loạn phóng noãn do hội chứng buồng trứng đa nang. Tuy nhiên, tần suất đa thai của OI/OI – IUI lên tới 30%, đặc biệt khi dùng gonadotropins. IVM có thể có lợi cho các bệnh nhân thất bại với OI/OI – IUI bằng thuốc uống vì tính thân thiện, an toàn.

IVM ở các bệnh nhân đáp ứng kém với kích thích buồng trứng

Dù rescue – IVM có thể giúp tăng số lượng phôi chuyển và một số ít thai kỳ diễn tiến, kỹ thuật rescue IVM không thay đổi tỷ lệ làm tổ và mang thai ở các bệnh nhân điều trị IVF đáp ứng kém với kích thích buồng trứng. Kết hợp kích thích buồng trứng và rescue IVM dường như không cải thiện kết cục ở bệnh nhân đáp ứng kém, có thể dùng kỹ thuật IVF/M chu kỳ nhân tạo thay thế ở nhóm bệnh nhân này. Ở các bệnh nhân đáp ứng kém, noãn tự nhiên cho hiệu quả tương đương với noãn do kích thích, và nội mạc ở các chu kỳ không kích thích có cơ hội chấp nhận phôi cao hơn. Do đó, IVM không được chỉ định ở các trường hợp đáp ứng kém kích thích buồng trứng, với dự trữ buồng trứng thấp.

HIỆU QUẢ IVM TRÊN LÂM SÀNG

Hiệu quả của IVM tiêu chuẩn kém hơn IVF trong điều trị hỗ trợ sinh sản liên quan đến hội chứng buồng trứng đa nang, bao gồm

tỷ lệ thai cộng dồn thấp hơn vì sự thất thoát các noãn non trong quá trình nuôi cấy cũng như giảm tiềm năng các noãn thụ tinh có thể phát triển thành phôi nang. Do đó, bệnh nhân có ít phôi dư ra để trữ đông so với các bệnh nhân điều trị IVF. Tỷ lệ làm tổ thấp sau chuyển phôi tươi không được ghi nhận trong các ca IVM được môi FSH và hCG. Phương pháp này cho phép nội mạc tăng sinh đầy đủ với estradiol, và hCG giúp hoàng thể hoạt động tốt hơn để hỗ trợ phôi, dẫn đến tỷ lệ làm tổ đạt 26%. Do đó, chuyển phôi tươi trong các chu kỳ IVF rút gọn có thể được lựa chọn.

Với hệ thống IVM tiêu chuẩn hoặc CAPA-IVM (2 pha), chiến lược trữ đông toàn bộ được xem là bắt buộc để tối ưu hóa hiệu quả^[5,6]. Dữ liệu từ các nghiên cứu mới nhất về kỹ thuật CAPA – IVM trên các bệnh nhân hội chứng buồng trứng đa nang ghi nhận tỷ lệ làm tổ 35 – 47%^[7-10]. Những dữ liệu này nên được xem xét kỹ dựa vào kỳ vọng lâm sàng theo thời gian, cân nhắc sự khác biệt về chủng tộc, tuổi, giai đoạn cũng như số lượng phôi chuyển ở các trung tâm khác. Tuy nhiên, có thể kết luận rằng: trường thành noãn trong ống nghiệm là một lựa chọn hấp dẫn đối với các bệnh nhân có gánh nặng về tài chính và giúp giảm liều thuốc cũng như các tác dụng phụ liên quan.

TÍNH AN TOÀN VÀ CÁC VẤN ĐỀ SỨC KHỎE DÀI HẠN

Đến nay, chưa có các bất thường dấu ấn gen được phát hiện trong máu cuống rốn và vi nhung mao bánh nhau của trẻ sinh ra từ IVM có môi hCG^[12]. Sức khỏe các trẻ sinh ra nhờ IVM (chủ yếu ở các phụ nữ hội chứng buồng trứng đa nang) cho thấy kết cục chu sinh bình thường, nhưng ít nghiên cứu có so sánh với nhóm chứng. Nhìn chung, các dữ liệu cho thấy sự phát triển tâm thần, vận

động của trẻ sinh ra sau IVM không có khác biệt đáng kể so với các phương pháp hỗ trợ sinh sản truyền thống. Một nghiên cứu gần đây không ghi nhận bất kỳ hệ quả tiêu cực nào từ kỹ thuật IVM khi so sánh trẻ được sinh ra nhờ kỹ thuật CAPA – IVM so với các trẻ được thụ thai tự nhiên cho đến 66 tháng tuổi^[11].

Các khuyến cáo hiện tại về IVM

Khuyến cáo của Hiệp hội Y học sinh sản Hoa Kỳ (ASRM) năm 2021^[12]

- Trưởng thành noãn non trong ống nghiệm được chính thức công nhận là một kỹ thuật hỗ trợ sinh sản thực thụ.
- Không còn được xem là một kỹ thuật điều trị ở giai đoạn thử nghiệm.
- Kết quả nhiều triển vọng của IVM cho thấy tiềm năng ứng dụng ngày càng rộng rãi trong tương lai trên nhiều nhóm bệnh nhân khác nhau.

Hướng dẫn quốc tế đánh giá và quản lý hội chứng buồng trứng đa nang dựa trên y học bằng chứng năm 2023^[13]

- IVM có thể được chỉ định ở phụ nữ có hội chứng buồng trứng đa nang như điều trị thay thế IVF/ICSI có kích thích buồng trứng, phôi được lưu trữ cho các chu kỳ chuyển phôi tiếp theo, hoàn toàn triệt tiêu nguy cơ hội chứng quá kích buồng trứng, tuy nhiên tỷ lệ trẻ sinh sống cộng dồn thấp hơn.
- Có thể cân nhắc chỉ định điều trị đầu tay bằng IVM và ICSI.

Khuyến cáo về bảo tồn khả năng sinh sản của Hội Sinh sản Người và Phôi học châu Âu năm 2020

- IVM nên được xem là như một phương pháp bảo tồn khả năng sinh sản mới.
- IVM nên được thực hiện bởi các chuyên gia khi cần trữ đông noãn trong trường hợp kích thích buồng trứng không khả thi.
- Trưởng thành noãn được thu thập từ buồng

trứng ngoài cơ thể có thể được áp dụng.

KẾT LUẬN

Đơn giản hóa trong điều trị vô sinh bằng IVM là phương pháp tiềm năng cho phần lớn các cặp vợ chồng hiếm muộn. IVM giảm đáng kể thời gian điều trị và nhu cầu sử dụng thuốc, độc lập với chu kỳ kinh nguyệt để thu thập noãn, không có biến chứng và tác dụng phụ, giá thành thấp hơn IVF truyền thống nhất là ở nhóm phụ nữ có hội chứng buồng trứng đa nang và dự trữ buồng trứng bình thường hoặc cao. Trong một số trường hợp, IVM chứng minh hiệu quả và ưu điểm vượt trội của mình như hội chứng đề kháng gonadotropin và bảo tồn khả năng sinh sản. Với những hiểu biết ngày càng sâu sắc về sinh lý nang noãn cùng với những cải thiện trong nuôi cấy trưởng thành noãn, IVM hứa hẹn sẽ là kỹ thuật hỗ trợ sinh sản phổ biến của tương lai không xa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. Rock and M. F. Menkin, 'In Vitro Fertilization and Cleavage of Human Ovarian Eggs', Science, vol. 100, no. 2588, pp. 105–107, Aug. 1944.
2. H. L. Le et al., 'Live birth after in vitro maturation in women with gonadotropin resistance ovary syndrome: report of two cases', Journal of Assisted Reproduction and Genetics, vol. 38, no. 12, pp. 3243–3249, Dec. 2021.
3. Li, J.H. and Xu, Y. (2022) 'Effect of dominant follicle status at the time of retrieval on the clinical outcomes in natural cycle IVF combined with immature oocyte treatment', Aging, 14(11), pp. 4728–4738.
4. Sauerbrun – Cutler, M. – T. et al. (2015) 'In vitro maturation and its role in clinical assisted reproductive technology', Obstetrical & Gynecological Survey, 70(1), pp. 45–57.
5. De Vos, M., Ho, T.M. and Gilchrist, R.B. (2021) 'Perspectives on the development and future of oocyte IVM in clinical practice', Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 38(6), pp. 1265–1280.
6. Vuong, L.N. et al. (2021) 'Fresh embryo transfer versus freeze – only after in vitro maturation with a pre – maturation step in women with high antral follicle count: a randomized controlled pilot study', Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 38(6), pp. 1293–1302.
7. Sanchez, F. et al. (2019) 'Biphasic in vitro maturation (CAPA – IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles', Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 36(10), pp. 2135–2144.
8. Akin, N. et al. (2022) 'Positive effects of amphiregulin on human oocyte maturation and its molecular drivers in patients with polycystic ovary syndrome', Human Reproduction, 37(1), pp. 30–43.
9. Vuong, Lan N. et al. (2020) 'Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome', Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 37(2), pp. 347–357.
10. L. N. Vuong et al., 'In – vitro maturation of oocytes versus conventional IVF in women with infertility and a high antral follicle count: a randomized non – inferiority controlled trial', Human Reproduction, vol. 35, no. 11, pp. 2537–2547, Nov. 2020.
11. Nguyen, D.L. and Vuong, L.N. (2022) 'Development of children born after in vitro maturation with a prematuration step versus natural conception: a prospective cohort study', Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 39(8), pp. 1959–1965.
12. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology, 'In vitro maturation: a committee opinion', Fertil Steril, vol. 99, no. 3, pp. 663–666, Mar. 2013.
13. "International evidence – based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome 2023".
14. Sanchez F, Le AH, Ho VNA, et al. Biphasic in vitro maturation (CAPA-IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles. J Assit Reprod Genet. 2019;36(10):2135–2144. doi:10.1007/s10815-019-01551-5