

VI KHUẨN CÓ THỂ ĐÓNG VAI TRÒ TRONG CƠ CHẾ BỆNH SINH CỦA LẠC NỘI MẠC TỬ CUNG: MỘT PHÁT HIỆN MỚI TỪ NHÓM NGHIÊN CỨU NHẬT BẢN

BS. Nguyễn Thanh Thảo, BS. Lê Thị Hà Xuyên

Nhóm Nghiên cứu Adenomyosis và Lạc nội mạc tử cung, Bệnh viện Mỹ Đức (SEAMD)

GIỚI THIỆU

Lạc nội mạc tử cung là tình trạng mô nội mạc tử cung phát triển bất thường bên ngoài tử cung, ảnh hưởng 10% phụ nữ ở độ tuổi sinh sản, gây đau vùng chậu mạn tính và hiếm muộn. Nhiều giả thuyết về nguyên nhân hình thành lạc nội mạc tử cung, bao gồm trào ngược dòng máu kinh, dị sản và sự tồn tại của ống Mullerian¹. Trong đó, giả thuyết trào ngược dòng máu kinh được chấp nhận rộng rãi nhất. Mặc dù đa số phụ nữ đều trải qua hiện tượng trào ngược máu kinh, chỉ 10 – 15% phụ nữ xuất hiện lạc nội mạc tử cung. Điều này gợi ý sự tồn tại của các cơ chế khác thúc đẩy hình thành lạc nội mạc tử cung.

Nghiên cứu gần đây đang gây xôn xao trong cộng đồng khoa học của giáo sư Muraoka từ Nhật Bản phát hiện vi khuẩn *Fusobacterium* có thể gây lạc nội mạc tử cung ở một số phụ nữ². *Fusobacterium* xâm nhập vào nội mạc tử cung, kích thích đại thực bào tiết TGF- β . TGF- β kích hoạt biểu hiện gen *TAGLN* trong nguyên bào sợi, biến chúng thành dạng gây bệnh, thúc đẩy hình thành lạc nội mạc tử cung. Nhóm nghiên cứu sau đó chứng minh giả thuyết tìm được ngược lại trên chuột. Thực nghiệm trên chuột cho thấy nhiễm *Fusobacterium* làm tăng số lượng và kích thước

các tổn thương lạc nội mạc tử cung. Điều trị kháng sinh giúp ngăn ngừa sự phát triển của sang thương lạc nội mạc tử cung.

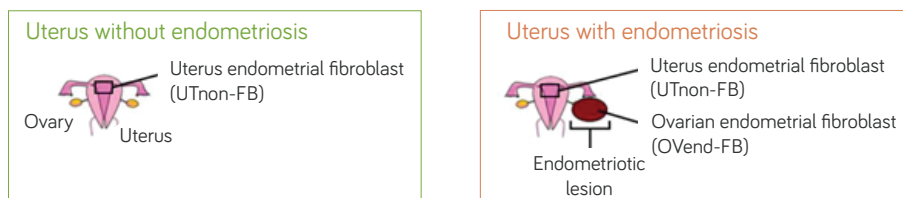
BIẾN ĐỔI NGUYÊN BÀO SỢI CƠ TỬ DẠNG KHÔNG HOẠT ĐỘNG SANG DẠNG HOẠT ĐỘNG TRONG LẠC NỘI MẠC TỬ CUNG

TAGLN tăng biểu hiện ở nguyên bào sợi của bệnh nhân lạc nội mạc tử cung

Các nhà khoa học lấy mẫu mô ở hai nhóm bệnh nhân: mô nội mạc tử cung ở nhóm không có lạc nội mạc tử cung (Utnon-FBs); nhóm có lạc nội mạc tử cung lấy ở hai vị trí, tại nội mạc tử cung (UTend-FBs) và tại mô lạc nội mạc tử cung ở buồng trứng (Ovend-FBs).

Nghiên cứu quan sát thấy 1.187 gen tăng biểu hiện và 1.084 gen giảm biểu hiện trong mô lạc nội mạc tử cung ($p < 0,05$). Khi so sánh với ba cơ sở dữ liệu khác, 10 gen tăng biểu hiện và 3 gen giảm biểu hiện ở mô lạc nội mạc tử cung so với mô nội mạc tử cung bình thường trong cả 4 cơ sở dữ liệu³.

13 gen này được xác định bởi qRT-PCR ở nhóm không có lạc nội mạc tử cung (UTnon-FB, $n=14$) so với nhóm có lạc nội mạc tử cung ở buồng trứng (OVend-FBs) và nguyên bào sợi của mô nội mạc tử cung của bệnh nhân có lạc nội mạc tử cung



Hình 1. Mô phỏng tử cung có lạc nội mạc tử cung và không lạc nội mạc tử cung cùng các dòng tế bào nguyên bào sợi².

(UTend-FBs, $n=14$). mRNA của *TAGLN* tăng rõ rệt trong số 13 gen, với tỷ lệ thấp nhất ở UTnon-FBs, và cao hơn ở UTend-FBs ($p<0,05$) và OVend-FBs ($p<0,01$). *TAGLN* protein cũng tăng biểu hiện ở UTnon-FBs và UTend-FBs, cao nhất ở OVend-FBs ($p<0,01$). Chỉ một phần nội mạc tử cung có nguyên bào sợi biểu hiện *TAGLN*, tuy nhiên protein của *TAGLN* hiện diện ở hầu hết các nguyên bào sợi ở mô lạc nội mạc tử cung buồng trứng trên cùng bệnh nhân có lạc nội mạc tử cung.

TGF- β 1 gây biểu hiện *TAGLN*

TGF- β 1 là yếu tố tăng trưởng chính, đóng vai trò quan trọng trong lạc nội mạc tử cung. TGF- β 1 gây biểu hiện gen liên quan nguyên bào sợi cơ, gồm *TAGLN*. TGF- β 1 và thụ thể của TGF- β tăng biểu hiện ở tế bào đệm và biểu mô của lạc nội mạc tử cung so với nội mạc tử cung bình thường. Thay đổi biểu hiện protein liên quan đến tăng histone H3 lysine 27 acetylation (H3K27ac) ở vùng khởi động, SMAD2/3 ở vùng điều hòa của gen *TAGLN* ở dòng tế bào MC1 và MC2. Điều này gợi ý điều hòa thượng di truyền liên quan đến chuyển nguyên bào sợi trạng thái nghỉ thành nguyên bào sợi cơ thông qua tín hiệu TGF- β .

Fusobacterium thúc đẩy hình thành sang thương lạc nội mạc tử cung

Nghiên cứu trước cho thấy 5 chủng vi khuẩn tăng đáng kể trong nội mạc tử cung ở bệnh nhân lạc nội mạc tử cung so với nhóm chứng ($p<0,01$)². Trong đó, nhóm tăng cao nhất là *Erysipelothrix*. Tuy nhiên, qua phân tích

qPCR, nhóm vi khuẩn này không biểu hiện lượng lớn trong mô nội mạc tử cung ở lạc nội mạc tử cung và không lạc nội mạc tử cung. Vì vậy, vi khuẩn thứ hai được khảo sát trong danh sách là *Fusobacterium*. *Fusobacterium* là nhóm vi khuẩn gram âm, kỵ khí, thường gây bệnh ở đường tiêu hóa và miệng.

Các mẫu mô nội mạc tử cung được lấy từ các bệnh nhân ở Bệnh viện Đại học Nagoya và Bệnh viện Đại học Toyota Kosei ở Nhật Bản. Trong đó có 76 bệnh nhân không có lạc nội mạc tử cung và 79 bệnh nhân được chẩn đoán lạc nội mạc tử cung đã được đưa vào nghiên cứu này. Tất cả các bệnh nhân đều có chỉ định cắt tử cung. Nhóm chứng không bị lạc nội mạc tử cung bao gồm các bệnh nhân đã trải qua phẫu thuật do u xơ cơ tử cung, adenomyosis, loạn sản cổ tử cung hoặc ung thư cổ tử cung và không có tiền sử lạc nội mạc tử cung.

Kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự hiện diện của *Fusobacterium* được tìm thấy ở nội mạc tử cung (64,3%) và mô lạc nội mạc tử cung (52,4%) của nhóm bệnh nhân có lạc nội mạc tử cung so với nhóm chứng không lạc nội mạc tử cung (7,1%) ($p<0,01$). *Fusobacterium* thâm nhiễm cao đáng kể trong cả hai mẫu mô lấy từ bệnh nhân có lạc nội mạc tử cung so với nhóm chứng ($p<0,01$). Đáng lưu ý, tín hiệu EUB338, FUSO và FUS664 gần như trùng lặp (>96% tín hiệu trộn lẫn), điều này gợi ý vi khuẩn thâm nhập nội mạc tử cung đa số là *F. nucleatum*.

Thâm nhiễm *F. nucleatum* kích hoạt đáp

ứng miễn dịch tự nhiên thông qua màng lipopolysaccharide. Đại thực bào là tế bào miễn dịch nhiều nhất trong lạc nội mạc tử cung, đặc biệt trong mô lạc nội mạc tử cung buồng trứng. Phân tích hóa mô miễn dịch chỉ ra TGF- β 1 trong mô đệm khác biệt đáng kể giữa mô mang *Fusobacterium* dương tính và âm tính từ UTend-EM ($p < 0,01$) và OVend ($p < 0,05$). Ngược lại, TGF- β 1 trong biểu mô không khác biệt giữa mô *Fusobacterium* dương tính và âm tính, mặc dù TGF- β 1 được chế tiết từ tế bào biểu mô ($p > 0,05$).

Nhóm nghiên cứu nuôi cấy đồng thời tế bào từ dòng đại thực bào THP1 (dTHP1) với *F. nucleatum* hoặc *Lactobacillus iners*. Trong khi *F. nucleatum* thúc đẩy biệt hóa dTHP1 thành đại thực bào M2 và sản xuất TGF- β 1, *L. iners* thì không ($p < 0,05$). Ngoài ra, môi trường bề mặt nuôi cấy dTHP1 và *F. nucleatum* tăng biểu hiện TAGLN protein ở tế bào MC2 ($p < 0,05$). Số lượng *Fusobacterium*, đại thực bào mang CD163 dương và chỉ số IHC của TGF- β 1 tỷ lệ thuận với nhau trong mô đệm nội mạc tử cung. Lượng *Fusobacterium* và TAGLN tương quan đáng kể trong mô nội mạc tử cung ($p < 0,01$) và lạc nội mạc tử cung ($p < 0,01$) ở bệnh nhân có lạc nội mạc tử cung, trong khi *Fusobacterium* và TAGLN thấp trong nhóm chứng. Kết quả này gợi ý rằng *F. nucleatum* trong nội mạc tử cung ảnh hưởng TAGLN nguyên bào sợi qua tăng điều hòa tín hiệu TGF- β 1.

NGHIÊN CỨU NGƯỢC LẠI TRÊN CHUỘT CHỨNG MINH *F. NUCLEATUM* GÂY RA LẠC NỘI MẠC TỬ CUNG

Sau khi tìm thấy mối liên quan giữa *F. nucleatum* và lạc nội mạc tử cung thông qua con đường TGF- β 1 biến các nguyên bào sợi từ trạng thái không hoạt động sang hoạt động. Nhóm nghiên cứu chứng minh ngược lại giả

thuyết bằng thực nghiệm trên chuột, để xem việc gây nhiễm *F. nucleatum* có thúc đẩy hình thành sang thương lạc nội mạc tử cung thông qua con đường nêu trên hay không.

Mô hình lạc nội mạc tử cung được hình thành khi tiêm mô nội mạc tử cung nghiền nhỏ vào khoang phúc mạc của chuột có bộ gen tương tự và có hệ thống miễn dịch hoàn chỉnh. Vì đặc điểm của chuột không có chu kỳ kinh nguyệt, nên để tế bào lạc nội mạc tử cung phát triển, các nhà khoa học phải đảm bảo tế bào đệm của nội mạc tử cung biểu hiện cả estrogen receptor α và β , sau đó dùng estrogen ngoại sinh để kích thích.

Để khẳng định, mô lạc nội mạc tử cung được thành lập trên tất cả chuột, bất kể tình trạng nhiễm *F. nucleatum*, 8 mg mô nội mạc tử cung được dùng trong mô hình này. *F. nucleatum* được tìm thấy trong nội mạc tử cung của chuột nhận, tương tự trong tử cung của chuột cho. Lượng lớn thâm nhiễm đại thực bào M2, TGF- β 1 và nguyên bào sợi cơ (myofibroblasts) mang TAGLN dương được thấy trong chất đệm nội mạc tử cung của chuột cho nhiễm *F. nucleatum* và lạc nội mạc tử cung hình thành từ nội mạc tử cung nhiễm *F. nucleatum* so với nhóm chứng ($p < 0,01$). Phân tích miễn dịch huỳnh quang cho thấy nhiễm *F. nucleatum* trùng vị trí với tế bào TAGLN dương tính ở chất đệm nội mạc tử cung nhiễm *F. nucleatum*. Biểu hiện cao protein TAGLN được thấy ở tế bào đệm nhưng không thấy ở tế bào biểu mô của nội mạc tử cung chuột cho và lạc nội mạc tử cung sau khi gây nhiễm với *F. nucleatum*. Nội mạc tử cung nhiễm *F. nucleatum* biểu hiện lượng lớn TGF- β 1 trong chất đệm với TAGLN. So với *F. nucleatum*, *L. iners* không gây thâm nhập đại thực bào M2, TGF- β 1 hoặc tăng số lượng nguyên bào sợi cơ có TAGLN dương sau khi tiêm vi khuẩn. Do đó, *L. iners* không gây hình thành lạc nội mạc tử cung so với

nhóm chứng. Khả năng hình thành lạc nội mạc tử cung của các vi khuẩn gram âm khác như *E.coli* cũng được khảo sát. Tuy nhiên, *E.coli* không ảnh hưởng đến số lượng và khối lượng sang thương lạc nội mạc tử cung, tương tự *L.iners*. Các dữ kiện trên ủng hộ *F. nucleatum* liên quan đến hình thành lạc nội mạc tử cung⁵.

Trong lâm sàng, *Fusobacterium* hiện diện trên phết dịch âm đạo của bệnh nhân lạc nội mạc tử cung cao hơn đáng kể so với bệnh nhân không lạc nội mạc tử cung ($p=0,023$). Tuy nhiên, nhiễm *Fusobacterium* có thể qua đường máu từ khoang miệng đến tử cung. Gây nhiễm chuột cho BALB/c với *F. nucleatum* qua tĩnh mạch cảnh cho thấy 56% biểu hiện *F. nucleatum* ở nội mạc tử cung sau 2 tuần. Lạc nội mạc tử cung hình thành từ mô nội mạc tử cung nhiễm *F. nucleatum* lớn hơn đáng kể so với mô không nhiễm *F. nucleatum* ($p<0,01$).

Để khảo sát vai trò của nguyên bào sợi mang TAGLN trong hình thành lạc nội mạc tử cung sau nhiễm *F. nucleatum* *in vivo*, TAGLN được loại bỏ bởi siRNA trong mô nội mạc tử cung nhiễm *F. nucleatum* của chuột cho. Loại bỏ TAGLN làm giảm đáng kể số lượng và khối lượng tổn thương nội mạc tử cung so với mô có TAGLN ($p<0,01$). TAGLN trong nội mạc tử cung của chuột cho không nhiễm *F. nucleatum* làm tăng số lượng và khối lượng lạc nội mạc tử cung *in vivo*.

ĐIỀU TRỊ KHÁNG SINH VỚI *F. NUCLEATUM* GIÚP GIẢM LẠC NỘI MẠC TỬ CUNG TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT

Hiệu quả của kháng sinh trong loại bỏ *F. nucleatum* được khảo sát trên chuột. Hai kháng sinh nhạy với *F. nucleatum* được sử dụng là metronidazole (MZ) và chloramphenicol (CP). MZ hoặc CP được dùng đường uống trong 5 ngày ở chuột có lạc nội mạc tử cung

hình thành từ nội mạc tử cung nhiễm *F. nucleatum*. Sau một tuần, *F. nucleatum* không còn hiện diện, đại thực bào M2, TGF- β 1 và TAGLN đều giảm trong nội mạc tử cung của chuột cho và lạc nội mạc tử cung của chuột nhận. Đồng thời, ở chuột nhận mô nội mạc tử cung từ chuột cho nhiễm *F. nucleatum* điều trị với MZ hoặc CP, lạc nội mạc tử cung hình thành với số lượng và khối lượng ít hơn so với nhóm không điều trị kháng sinh.

Hiệu quả của kháng sinh còn được khảo sát sau 3 tuần gây nhiễm. Kháng sinh làm giảm số lượng *F. nucleatum*, thâm nhiễm đại thực bào M2, TGF- β 1 và TAGLN protein trong lạc nội mạc tử cung, giảm đáng kể khối lượng lạc nội mạc tử cung sau 21 ngày điều trị ($p<0,05$ và $p<0,01$). Tóm lại, MZ hoặc CP có thể được dùng để điều trị lạc nội mạc tử cung.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu của Muraoka và cộng sự (2023)³ cho thấy nhiễm *Fusobacterium* ở nội mạc tử cung có thể là cơ chế sinh bệnh học của lạc nội mạc tử cung. Lý do *Fusobacterium* xuất hiện trong nội mạc tử cung ở một số bệnh nhân vẫn chưa rõ ràng. Một số nghiên cứu cho thấy nhiễm *F. nucleatum* ở tử cung do vi khuẩn từ khoang miệng qua đường máu. Quá trình này chủ yếu xảy ra trong thai kỳ, khi lượng máu qua bánh nhau tăng⁴. Tuy nhiên, bệnh nhân lạc nội mạc tử cung thường chưa mang thai, sự lây nhiễm qua ngả âm đạo có thể được cân nhắc. Hiện diện của *Fusobacterium* trên phết tế bào âm đạo của bệnh nhân lạc nội mạc tử cung cao hơn đáng kể so với bệnh nhân không lạc nội mạc tử cung ($p=0,023$). Điều này ủng hộ khả năng vi khuẩn lây lan theo ngả âm đạo. *F. nucleatum* gây tổn thương hàng rào ở ruột và kích hoạt quá trình viêm. Vai trò bệnh sinh này của *F. nucleatum* do tính bám dính mạnh với biểu

mô và khả năng xâm lấn⁵. *F. nucleatum* kích hoạt đại thực bào M2 sản xuất TGF- β 1 và hoạt hóa tín hiệu TGF- β *in vitro*.

Như vậy, nghiên cứu cho thấy *Fusobacterium* đóng vai trò quan trọng trong bệnh sinh lạc nội mạc tử cung. Nhóm tác giả còn tìm ra con đường tín hiệu từ nhiễm *Fusobacterium* đến hình thành sang thương lạc nội mạc tử cung. Việc điều trị nhằm loại bỏ *Fusobacterium* bằng kháng sinh có thể là một chiến lược điều trị tiềm năng cho lạc nội mạc tử cung. Đây là một phát hiện mới, mang tính đột phá giúp góp phần tìm ra phương pháp ngăn ngừa và điều trị lạc nội mạc tử

cung hiệu quả hơn, tuy nhiên vẫn cần thêm nghiên cứu trên lâm sàng để chứng minh hiệu quả của phương pháp này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bulun, S.E. Endometriosis. *N Engl J Med*. 2009, 360(3), pp268-279.
2. Muraoka, A., Suzuki, M., Hamaguchi, T., Watanabe, S., Iijima, K., Murofushi, Y., Shinjo, K., Osuka, S., Hariyama, Y., Ito, M., Ohno, K., Kiyono, T., Kyo, S., Iwase, A., Kikkawa, F., Kajiyama, H., & Kondo, Y. *Fusobacterium* infection facilitates the development of endometriosis through the phenotypic transition of endometrial fibroblasts. *Science translational medicine*. 2023, 15(700), eadd1531. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.add1531>.
3. Predeus, A.V., Vashukova, E.S., Glotov, A.S., Danilova, M.M., Osinovskaya, N.S., Malysheva, O.V., Shved, N.Y., Ganbarli, N., Yarmolinskaya, M.I., Ivashchenko, T.E. and Baranov, V.S. Next-Generation Sequencing of Matched Ectopic and Eutopic Endometrium Identifies Novel Endometriosis-Related Genes. *Russian Journal of Genetics*. 2018, 54(11), pp.1358-1365.
4. Vander Haar, E.L., So, J., Gyamfi-Bannerman, C. and Han, Y.W. *Fusobacterium nucleatum* and adverse pregnancy outcomes: Epidemiological and mechanistic evidence. *Anaerobe*. 2018, 50, pp.55-59.
5. Ai, L., Ren, Y., Zhu, M., Lu, S., Qian, Y., Chen, Z. and Xu, A. Synbindin restrains proinflammatory macrophage activation against microbiota and mucosal inflammation during colitis. *Gut*. 2021, 70(12), pp.2261-2272.

Tiếp theo bài ở trang 79 → SUY TUYẾN YÊN DO HỘI CHỨNG SHEEHAN

3. Elumir-Mamba LAS, Andag-Silva AA, Fonte JS, Mercado-Asis LB. Clinical profile and etiology of hypopituitarism at the University Of Santo Tomas Hospital. *Philippine Journal of Internal Medicine*. 2010;48:23-28.
4. Wolpert SM, Molitch ME, Goldman JA, Wood JB. Size, shape, and appearance of the normal female pituitary gland. *AJR Am J Roentgenol*. 1984;143(2):377-381. doi:10.2214/ajr.143.2.377
5. Scheithauer BW, Sano T, Kovacs KT, Young WF, Ryan N, Randall RV. The pituitary gland in pregnancy: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 69 cases. *Mayo Clin Proc*. 1990;65(4):461-474. doi:10.1016/s0025-6196(12)60946-x
6. T M, Kn K, T I, A Y, H M. Evaluation of obstetrical factors related to Sheehan syndrome. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2014;40(1). doi:10.1111/jog.12119
7. Sherif IH, Vanderley CM, Beshyah S, Bosairi S. Sella size and contents in Sheehan's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1989;30(6):613-618. doi:10.1111/j.1365-2265.1989.tb00265.x
8. Cunningham FG, Nelson DB. Disseminated Intravascular Coagulation Syndromes in Obstetrics. *Obstet Gynecol*. 2015;126(5):999-1011. doi:10.1097/AOG.0000000000001110.
9. Gokalp D, Tuzcu A, Bahceci M, et al. Analysis of thrombophilic genetic mutations in patients with Sheehan's syndrome: is thrombophilia responsible for the pathogenesis of Sheehan's syndrome? *Pituitary*. 2011;14(2):168-173. doi:10.1007/s11102-010-0276-x
10. Kovacs K. Sheehan syndrome. *Lancet*. 2003;361(9356):520-522. doi:10.1016/S0140-6736(03)12490-7
11. Goswami R, Kochupillai N, Crock PA, Jaleel A, Gupta N. Pituitary autoimmunity in patients with Sheehan's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(9):4137-4141. doi:10.1210/jc.2001-020242
12. H D, F T, Z K, et al. Extensive investigation of 114 patients with Sheehan's syndrome: a continuing disorder. *European journal of endocrinology*. 2014;171(3). doi:10.1530/EJE-14-0244
13. Lim CH, Han JH, Jin J, et al. Electrolyte Imbalance in Patients with Sheehan's Syndrome. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2015;30(4):502-508. doi:10.3803/EnM.2015.30.4.502
14. Dökmetaş HS, Kilici F, Korkmaz S, Yonem O. Characteristic features of 20 patients with Sheehan's syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2006;22(5):279-283. doi:10.1080/09513590600630504
15. Gokalp D, Alpagat G, Tuzcu A, et al. Four decades without diagnosis: Sheehan's syndrome, a retrospective analysis. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(11):904-907. doi:10.1080/09513590.2016.1190331
16. Diri H, Karaca Z, Tanriverdi F, Unluhizarci K, Kelestimur F. Sheehan's syndrome: new insights into an old disease. *Endocrine*. 2016;51(1):22-31. doi:10.1007/s12020-015-0726-3.
17. WHO Recommendations for the Prevention and Treatment of Postpartum Haemorrhage. *World Health Organization*; 2012. Accessed August 9, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK131942/>.

Tiếp theo bài ở trang 83 → BẢO TỒN KHẢ NĂNG SINH SẢN CHO PHỤ NỮ MẮC HỘI CHỨNG TURNER

10. Mamsen LS, Charkiewicz K, Anderson RA, Telfer EE, McLaughlin M, Kelsey TW, et al. Characterization of follicles in girls and young women with Turner syndrome who underwent ovarian tissue cryopreservation. *Fertil Steril*. 2019 Jun;111(6):1217 - 1225.e3.
11. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet Lond Engl*. 2004 Oct 16;364(9443):1405-10.
12. Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, Deguchi M, Sato Y, Takae S, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Oct 22;110(43):17474-9.
13. Suzuki N, Yoshioka N, Takae S, Sugishita Y, Tamura M, Hashimoto S, et al. Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2015 Mar;30(3):608-15.
14. Cordeiro CN, Christianson MS, Selter JH, Segars JH. In Vitro Activation: A Possible New Frontier for Treatment of Primary Ovarian Insufficiency. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2016 Apr;23(4):429-38.
15. Wilkosz P, Greggains GD, Tanbo TG, Fedorcsak P. Female reproductive decline is determined by remaining ovarian reserve and age. *PLoS One*. 2014;9(10):e108343.
16. Hadnott TN, Gould HN, Gharib AM, Bondy CA. Outcomes of spontaneous and assisted pregnancies in Turner syndrome: the U.S. National Institutes of Health experience. *Fertil Steril*. 2011 Jun;95(7):2251-6.
17. Kelsey TW, Anderson RA, Wright P, Nelson SM, Wallace WHB. Data - driven assessment of the human ovarian reserve. *Mol Hum Reprod*. 2012 Feb;18(2):79-87.
18. Bondy C, Rosing D, Reindollar R. Cardiovascular risks of pregnancy in women with Turner syndrome. *Fertil Steril*. 2009 May;91(5):e31-2; author reply e34. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.061. Epub 2009 Apr 1. PMID: 19342026.