

# HỖ TRỢ HOẠT HÓA NOÃN TRONG ĐIỀU TRỊ THỤ TINH ỒNG NGHIỆM: CẬP NHẬT Y VĂN THẾ GIỚI

CN. Nguyễn Quỳnh Như<sup>1</sup>, ThS. Trương Văn Hải<sup>1</sup>, Ths. Huỳnh Trọng Kha<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bệnh viện Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột; <sup>2</sup>Bệnh viện Mỹ Đức

## TỔNG QUAN

Trong kỹ thuật hỗ trợ sinh sản, khoảng 1 – 5% các trường hợp thất bại thụ tinh hoàn toàn sau khi thực hiện tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (Intra cytoplasmic sperm injection – ICSI), trong đó, 70 – 80% noãn thất bại thụ tinh vẫn ở trạng thái metaphase II. Thất bại hoạt hóa noãn được cho là nguyên nhân chính gây thất bại thụ tinh hoàn toàn hoặc thụ tinh kém với tỷ lệ thụ tinh thấp hơn 30%. Do đó, để cải thiện tỷ lệ thụ tinh, có nhiều phương pháp nhằm hỗ trợ cho quá trình hoạt hóa noãn, gọi chung là các kỹ thuật hỗ trợ hoạt hóa noãn (Assisted oocyte activation – AOA) đã được phát triển. Kỹ thuật AOA dựa vào cơ chế mô phỏng quá trình hoạt hóa noãn tự nhiên thông qua việc kích hoạt các ion  $Ca^{2+}$  sau khi tinh trùng xâm nhập vào bào tương noãn. Cho tới hiện nay đã có nhiều nghiên cứu chứng minh hiệu quả của phương pháp AOA trên các nhóm bệnh nhân bất thường tinh trùng nặng như cryptozoospermia, globozoospermia, tinh trùng thủ thuật. Gần đây, người ta thấy rằng, các tín hiệu ion  $Ca^{2+}$  ngoài chức năng kích hoạt quá trình thụ tinh, hình thành hợp tử sau khi thụ tinh, nó còn đóng vai trò quan trọng đối với sự ổn định của hệ thống trục phân chia tế bào, từ đó có chức năng quan trọng trong quá trình phát triển phôi bào<sup>1</sup>. Một số nghiên cứu còn cho thấy AOA giúp cải thiện nhóm bệnh nhân có tiền căn phôi chất lượng kém hoặc phôi ngừng phát triển. Do đó, việc

ứng dụng AOA trong lâm sàng vẫn còn chứa đựng nhiều lợi ích và hạn chế chưa được làm rõ. Trong khuôn khổ bài viết này, chúng tôi cập nhật một số y văn hiện tại về vấn đề sử dụng AOA trong thực hành lâm sàng.

## CHỈ ĐỊNH AOA Ở CÁC TRUNG TÂM THỤ TINH ỒNG NGHIỆM HIỆN NAY

### Nhóm vô sinh do yếu tố nam nặng

Đối với quá trình thụ tinh, việc tinh trùng giải phóng phospholipase C zeta (PLC $\zeta$ ) để hoạt hóa noãn sau khi xâm nhập là yếu tố vô cùng quan trọng. Trong nhóm vô sinh do yếu tố nam nặng, đặc biệt là các bất thường về đầu tinh trùng thường thiếu hoặc rất ít PLC $\zeta$  để có thể kích hoạt thụ tinh. Do đó, ICSI kết hợp AOA được đề xuất sử dụng trong các trường hợp này nhằm nâng cao hiệu quả điều trị, tăng tỷ lệ thụ tinh, giảm tỷ lệ thất bại thụ tinh hoàn toàn. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh ICSI – AOA có hiệu quả hơn ICSI thông thường đối với các trường hợp bất thường tinh trùng nặng như: globozoospermia, cryptozoospermia, bất thường acrosome, đầu bất định, tinh trùng thu nhận từ thủ thuật.

Diễn hình, công bố của Moaz và cộng sự (2006) cho thấy AOA có hiệu quả tăng tỷ lệ thụ tinh đối với nhóm đầu bất định (82,7 so với 36,7%,  $P = 0,0008$ ) và đầu nhỏ (81,7% so với 39,3%,  $P = 0,005$ ) khi phân tích trên 56 chu kỳ điều trị có tỷ lệ thụ tinh thấp ( $< 30\%$ ) ở

các chu kỳ điều trị trước đó<sup>2</sup>. Các công bố của Nilay và cộng sự (2015), Puneet và cộng sự (2016) cũng cho thấy các trường hợp kích hoạt thụ tinh và mang thai thành công sau khi thực hiện AOA ở đối tượng bệnh nhân có tình trạng globozoospermia toàn phần<sup>3,4</sup>. Nghiên cứu của Xiangli và cộng sự (2020) khi so sánh hiệu quả của ICSI tình trùng đầu tròn kết hợp AOA và sử dụng tinh trùng bình thường của người hiến tặng trong thí nghiệm chia noãn. Kết quả cho thấy, mặc dù tỷ lệ thụ tinh ở nhóm ICSI – AOA tình trùng đầu tròn thấp hơn so với nhóm tình trùng hiến tặng, tuy nhiên tỷ lệ phát triển phôi nang và tỷ lệ phôi nguyên bội là tương đương giữa 2 nhóm<sup>5</sup>.

Ở nhóm tình trùng thủ thuật, Ebner và cộng sự (2012) tiến hành so sánh hiệu quả ICSI – AOA trên 29 bệnh nhân azoospermia, thu nhận tinh trùng từ tinh hoàn và 37 bệnh nhân cryptozoospermia. Sau 73 chu kỳ chuyển phôi, tỷ lệ mang thai lâm sàng đạt 39,7%, có 32 em bé đã ra đời khỏe mạnh cao hơn đáng kể so với các chu kỳ ICSI thông thường trước đó<sup>6</sup>. Nghiên cứu đã chứng minh vai trò của AOA đối với nhóm vô sinh do yếu tố nam nặng, đây là lưu ý quan trọng khi chỉ định thực hiện AOA ở các trung tâm điều trị hỗ trợ sinh sản hiện nay.

#### **Nhóm tiền căn thụ tinh kém hoặc thất bại thụ tinh hoàn toàn**

Hiện nay, có nhiều nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả AOA ở nhóm đối tượng bệnh nhân tiền căn thụ tinh kém hay thất bại thụ tinh hoàn toàn. Điển hình, Tejera và cộng sự (2018) tiến hành thực hiện ICSI – AOA trên nhóm đối tượng bệnh nhân thất bại thụ tinh hoàn toàn hoặc tỷ lệ thụ tinh kém ở các chu kỳ điều trị trước đó. Kết quả cho thấy, ICSI – AOA có hiệu quả rõ rệt so với những chu kỳ thực hiện ICSI thông thường, cụ thể: tỷ lệ thụ tinh là 51,3% so với 15%; tỷ lệ thai lâm sàng 47,2% so với 15,4%<sup>7</sup>. Đồng tình với quan điểm trên, Li và cộng sự (2019) cũng cho rằng ICSI – AOA có hiệu quả đáng kể so với ICSI thông thường về khả năng thụ tinh, khả năng phát triển phôi và tỷ lệ

phôi hữu dụng. Trong một phân tích tổng hợp, Davina và cộng sự (2019) thực hiện nghiên cứu hồi cứu trong vòng 17 năm, kết quả cho thấy AOA có hiệu quả cải thiện tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ thai lâm sàng ở nhóm thiếu hụt yếu tố hoạt hóa noãn, kể cả nguyên nhân từ tình trùng và noãn. Trong nghiên cứu này, 225 chu kỳ chuyển phôi đã được thực hiện, cho ra đời 60 em bé khỏe mạnh<sup>8</sup>. Gần đây, với hoạt chất AOA – canxi ionophore tổng hợp thương mại, Shan và cộng sự (2022) cho thấy ICSI kết hợp AOA – canxi ionophore trên nhóm bệnh nhân tiền căn thất bại thụ tinh hoàn toàn hay tỷ lệ thụ tinh kém, AOA – canxi ionophore giúp nâng cao tỷ lệ thụ tinh (OR = 3,77; KTC 95%, 2,28 – 6,23; P<0,00001)<sup>9</sup>.

#### **Nhóm có tiền căn phát triển phôi kém**

Trong sinh lý phát triển phôi, Ca<sup>2+</sup> không những có vai trò kích hoạt quá trình thụ tinh, mà còn có ý nghĩa quan trọng trong quá trình kích hoạt bộ gen của phôi cũng như phân chia tế bào. Ebner và cộng sự (2015) thực hiện nghiên cứu và đưa ra giả thuyết cho rằng AOA có thể khôi phục các tín hiệu canxi của phôi trong giai đoạn phân chia giúp phôi có thể tiếp tục phát triển đến giai đoạn phôi nang. Dựa trên cơ sở này, các nghiên cứu tiếp theo đã mở rộng chỉ định AOA trên nhóm bệnh nhân có tiền căn phôi kém.

Trong phân tích tổng hợp của Sughashini và cộng sự (2017) cho thấy hiệu quả cải thiện của ICSI – AOA so với ICSI thông thường ở nhóm bệnh nhân có tiền căn phát triển phôi kém về các khía cạnh tỷ lệ phát triển phôi và tỷ lệ hình thành phôi nang. Cụ thể, khi so sánh giữa các chu kỳ thực hiện ICSI – AOA so với ICSI, tỷ lệ phát triển phôi lần lượt là 68,3% so với 48,7% (OR = 2,28; KTC 95%, 1,23 – 4,21); tỷ lệ hình thành phôi nang là 51% so với 10,7% (OR = 6,70; KTC 95%, 2,59 – 17,28)<sup>10</sup>. Gần đây, Shan và cộng sự (2022), tổng hợp trên 5 nghiên cứu riêng biệt cũng ghi nhận kết quả tương tự khi nhóm ICSI – AOA có tỷ lệ phôi nang cao hơn đáng kể so với chỉ ICSI đơn thuần (lần lượt là

55,55% so với 32,77%, OR = 3,59; KTC 95%, 1,34 – 9,60; P = 0,01)<sup>9</sup>.

Trái ngược với các quan điểm trên, Mateizel và cộng sự (2022) cho rằng không có khác biệt về tỷ lệ phát triển phôi và tỷ lệ phôi nang hữu dụng giữa 2 nhóm ICSI – AOA và ICSI thông thường trong nghiên cứu chia noãn<sup>11</sup>. Nghiên cứu tương tự của Yin (2022) cũng cho rằng không có sự khác biệt đáng kể nào về tỷ lệ thụ tinh, phát triển phôi, tỷ lệ hình thành phôi nang, tỷ lệ phôi hữu dụng và các kết quả lâm sàng khác khi so sánh giữa 2 nhóm ICSI – AOA và ICSI thông thường<sup>12</sup>.

Như vậy, quan điểm về chỉ định thực hiện AOA trên nhóm đối tượng bệnh nhân có tiền căn phôi phát triển kém vẫn là vấn đề tranh cãi giữa các trung tâm IVF trên thế giới. Do đó, tùy thuộc vào tình hình điều trị cụ thể và quan điểm lâm sàng để có thể quyết định thực hiện AOA trong những trường hợp này hay không.

#### Chỉ định khác

Gần đây, nhiều nghiên cứu đã tiến hành đánh giá hiệu quả của AOA trên nhiều nhóm nguyên nhân vô sinh khác nhau, đặc biệt là vô sinh do yếu tố nữ hoặc vô sinh không rõ nguyên nhân.

Trong nhóm bệnh nhân vô sinh không rõ nguyên nhân, buồng trứng đa nang, tinh trùng OAT (oligoasthenoteratozoospermia), Mingrong và cộng sự (2020) chứng minh rằng AOA có thể cải thiện kết quả về tỷ lệ phát triển phôi, tỷ lệ phôi nang chất lượng tốt<sup>1</sup>. Bên cạnh đó, ở nhóm bệnh nhân tiền lượng thành công thấp theo tiêu chuẩn POSEIDON (2016), Tsai và cộng sự (2021) cho thấy ICSI – AOA có hiệu quả trong việc kích hoạt thụ tinh, phát triển phôi và mang thai ở phụ nữ thuộc POSEIDON nhóm 3, bệnh nhân có tiền sử thất bại thụ tinh hoàn toàn, được xác định là do noãn thiếu yếu tố hoạt hóa<sup>13</sup>. Sau đó, năm 2022, tác giả Tsai tiếp tục cho thấy hiệu quả AOA về cải thiện tỷ lệ phát triển phôi và chất lượng phôi phân chia tốt (P = 0,001) trên 308 bệnh nhân thuộc POSEIDON nhóm 4 (lớn tuổi, giảm dự trữ buồng trứng)<sup>14</sup>.

Mặc dù một số nghiên cứu nêu trên đã cho

thấy hiệu quả của AOA đối với các nhóm bệnh nhân có nguyên nhân vô sinh khác nhau. Tuy nhiên, đây chỉ là các nghiên cứu bước đầu, cần có những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để chứng minh vai trò của AOA đối với từng nhóm bệnh nhân cụ thể trước khi quyết định chỉ định trong thực hành lâm sàng.

## TÍNH AN TOÀN CỦA AOA

### Động học của phôi

Trong kỹ thuật AOA, làn sóng  $Ca^{2+}$  nhân tạo có kiểu dao động khác với sinh lý tự nhiên của tế bào noãn và các ion  $Ca^{2+}$  được giải phóng trong quá trình AOA một cách ồ ạt không thể kiểm soát. Chính vì điều này, một số quan ngại AOA gây ra những ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển của phôi cũng như làm tăng nguy cơ sai lệch trong phân chia nhiễm sắc thể. Các thông số hình thái học của phôi có thể giúp theo dõi tiến trình phát triển của phôi, thời gian phân chia tế bào và các sự kiện của phôi có liên quan đến chất lượng phôi, tình trạng nhiễm sắc thể cũng như dự đoán kết quả lâm sàng. Vì vậy, một số nghiên cứu thực hiện đánh giá sự ảnh hưởng của AOA lên động học hình thái của phôi. Nghiên cứu tiến cứu chia đôi noãn trên 78 bệnh nhân ICSI, kết quả cho thấy các tế bào noãn sau AOA có sự hình thành hai tiền nhân sớm hơn đáng kể và chu kỳ phân chia tế bào thứ 3 (s3) ngắn hơn ở nhóm có AOA (p=0,036)<sup>15</sup>. Sự xuất hiện sớm của hai tiền nhân phản ánh các sự kiện ở giai đoạn sớm đã diễn ra nhanh hơn sau khi làn sóng  $Ca^{2+}$  nhân tạo hình thành, điều này cũng đã từng được chứng minh trong nghiên cứu của Martinez và cộng sự (2021). Thời gian s3 là một dấu ấn sinh học cho tiềm năng phát triển, chất lượng phôi nang và khả năng làm tổ của phôi, s3 ngắn hơn cho thấy tiềm năng lớn hơn của phôi sau AOA. Ngoài ra, AOA không làm tăng tỷ lệ phân chia không đều của phôi, là một cơ sở quan trọng để đánh giá tính an toàn của phương pháp này<sup>15</sup>. Ngày nay, khi chỉ định AOA càng mở rộng vấn đề tính an toàn của phương pháp này càng được quan tâm. Cho đến hiện

tại, các nghiên cứu cho thấy bằng chứng AOA là một phương pháp an toàn. Cụ thể, trong một nghiên cứu tiến cứu của Seo và cộng sự (2021) cho thấy AOA không làm tăng tỷ lệ phôi dị bội so với ICSI thông thường<sup>16</sup>. Trước đó, Capalbo và cộng sự (2016) cũng đã chứng minh các tế bào noãn sau khi AOA đã diễn ra quá trình thụ tinh bình thường, không ghi nhận sự gia tăng lỗi trong phân ly nhiễm sắc thể<sup>17</sup>.

### Kết quả lâm sàng

Trong khi các kết quả phôi học sau AOA cho thấy sự tác động tích cực thì hiện nay các kết quả lâm sàng ghi nhận còn nhiều sự khác biệt. Nghiên cứu hồi cứu trên 5.686 bệnh nhân chuyển phôi sau AOA và ICSI thông thường cho thấy kết quả lâm sàng không cải thiện. Tỷ lệ thai lâm sàng, thai sinh hóa, sẩy thai và trẻ sinh sống không ghi nhận sự khác biệt giữa hai nhóm nghiên cứu<sup>18</sup>. Kết quả tương tự cũng được nhận thấy trong nghiên cứu tiến cứu của Yin (2021), kết quả thai lâm sàng, sẩy thai và trẻ sinh sống không có sự khác biệt nào được ghi nhận sau khi AOA<sup>16</sup>. Kết quả này cho thấy AOA không giúp cải thiện các kết quả phát triển phôi thai so với ICSI thông thường. Trong khi đó, nghiên cứu phân tích gần đây trên 17 nghiên cứu riêng biệt cho thấy tỷ lệ thai lâm sàng cao hơn ở nhóm AOA (34,87%) so với nhóm chứng (32,68%, OR = 2,14; KTC 95%, 1,38 – 3,31; P = 0,0006; I<sup>2</sup> = 82%). Tỷ lệ trẻ sinh sống cũng được ghi nhận cao hơn trong nhóm có hỗ trợ AOA so với nhóm chứng (OR = 2,65; KTC 95%, 1,53 – 4,60; P = 0,0005; I<sup>2</sup> = 80%), và đặc biệt tăng ở nhóm bệnh nhân thất bại thụ tinh hoàn toàn (OR = 4,76; KTC 95%, 2,01 – 11,25; P = 0,0004; I<sup>2</sup> = 65%)<sup>9</sup>. Sự khác biệt trong các kết quả nghiên cứu có thể đến từ sự chưa đồng nhất trong phương pháp nghiên cứu, hiện nay các nghiên cứu hồi cứu vẫn chiếm đa số và cỡ mẫu nhỏ hiện cũng là một hạn chế lớn. Để làm rõ tác động AOA lên kết quả lâm sàng cần có dữ liệu lớn hơn với thiết kế chặt chẽ để nâng cao độ tin cậy cho kết quả sau nghiên cứu.

Sức khỏe trẻ sinh sống sau chuyển phôi AOA

cần được xem xét cẩn thận, đặc biệt là hiện nay khi sử dụng chất tổng hợp thương mại trở thành quy trình phổ biến trong AOA. Trong phân tích tổng hợp gần đây trên 316 trẻ sơ sinh sau ICSI – AOA cho thấy không có sự khác biệt đáng kể nào được ghi nhận so với nhóm ICSI thông thường (RR=1,27, KTC 95%, 0,70 – 2,28)<sup>19</sup>. Trước đó, nhiều nghiên cứu độc lập cũng đã ghi nhận kết quả tương tự khi phát hiện kết quả chu sinh và dị tật bẩm sinh của trẻ sơ sinh không khác biệt so với trẻ sinh ra từ ICSI. Một nghiên cứu theo dõi sức khỏe của 21 trẻ sinh ra sau AOA từ 3 – 10 năm cho thấy tất cả các trẻ đều có sự phát triển trí thông minh, khả năng ngôn ngữ và giao tiếp trong phạm vi bình thường, tuy nhiên có 3 trẻ (14,3%) được chẩn đoán là dị tật bẩm sinh ở độ tuổi từ 1 – 3 tuổi<sup>20</sup>. Mặc dù hiện nay các nghiên cứu đều cho thấy kết quả AOA không ảnh hưởng đến sức khỏe trẻ sinh ra tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu chỉ dừng ở mức trẻ sơ sinh, điều này thiếu đi những dữ kiện quan trọng trong đánh giá mức độ an toàn của phương pháp này.

### HẠN CHẾ TRONG THỰC HÀNH

Một trong các hạn chế của AOA là sự thiếu các thử nghiệm đối chứng có độ tin cậy cao và cỡ mẫu lớn đã khiến cho các nghiên cứu hiện nay chưa thể đưa ra kết luận rõ ràng, cũng như đủ tin cậy cho thực hành lâm sàng thường quy. Điều này còn dẫn đến tăng độ chênh lệch trong các phân tích tổng hợp và hạn chế khả năng thu nhận những kết luận đáng tin cậy<sup>9</sup>. Ngoài ra, thiếu quy trình chuẩn hóa trong phương pháp AOA khiến cho việc phân tích dữ liệu trở nên ngày càng phức tạp. Giữa các nghiên cứu không chỉ khác nhau về kỹ thuật AOA cơ học, điện học hay hóa học mà còn khác nhau về thời gian, liều lượng và số lần AOA trong mỗi chu kỳ thực hiện. Đặc biệt, đối với hóa chất ionophore có thể gây độc cho tế bào nếu tiếp xúc kéo dài với liều lượng cao, do đó cần sớm có quy chuẩn về liều lượng và thời gian sử dụng để đảm bảo an toàn cho phôi.

Hạn chế khác của AOA là các nghiên cứu đánh giá tính hiệu quả và an toàn chưa nhiều và phụ thuộc vào mô hình động vật. Phần lớn các nghiên cứu tác động của hóa chất trong AOA lên chất lượng noãn, phôi đều đang thực hiện trên các mô hình động vật. Tuy nhiên, có sự khác biệt đáng kể của cơ chế kích hoạt giữa người và động vật, do đó cần thận trọng trong việc ngoại suy những kết quả từ mô hình động vật<sup>17</sup>. Với sự phức tạp của cơ chế tế bào, sự dao động  $Ca^{2+}$  nhân tạo trong tế bào chất gây ra những xáo trộn khác tự nhiên làm dấy lên lo ngại về những biến đổi trong biểu hiện gen và các biến đổi thượng di truyền có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của thai sau làm tổ.

Như vậy, mặc dù ra đời và thực hành lâm sàng đã lâu nhưng AOA vẫn gặp phải nhiều hạn chế. Sẽ cần nhiều nghiên cứu sâu hơn với số liệu lớn hơn để có thể đánh giá toàn diện nhất về phương pháp này. Do đó, trong thực hành lâm sàng hiện tại, AOA nên được cân nhắc và chỉ định đúng đối tượng để đảm bảo mang lại hiệu quả điều trị cho bệnh nhân và tránh những tác động không mong muốn.

## KẾT LUẬN

Kỹ thuật AOA đã cho thấy hiệu quả tích cực kể từ khi được áp dụng rộng rãi trong thực hành lâm sàng. AOA giúp cải thiện tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ phôi tốt mà không làm ảnh hưởng đến động học hình thái của phôi. Đối với các kết quả lâm sàng, mặc dù tỷ lệ thai lâm sàng, sảy thai, trẻ sinh sống còn nhiều khác biệt giữa các nghiên cứu, nhìn chung AOA không gây tác động tiêu cực đến các kết quả lâm sàng. Tính an toàn và hiệu quả của phương pháp này cũng được chứng minh khi AOA không làm tăng tỷ lệ dị bội phôi hay dị tật bẩm sinh. Ngoài ra, sức khỏe trẻ sinh sau AOA cũng được ghi nhận là bình thường, không có khác biệt so với các chu kỳ ICSI. Mặc dù vậy, một quy trình chuẩn hóa với những hiểu biết sâu rộng hơn về tác động AOA lên biểu hiện gen và thượng di truyền cần được làm rõ trong những nghiên cứu tiếp theo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lv M, Zhang D, He X, Chen B, Li Q, Ding D, và c.s. Artificial oocyte activation to improve reproductive outcomes in couples with various causes of infertility: a retrospective cohort study. *Reprod Biomed Online*. 1 Apr 2020;40(4):501 – 9.
2. Moaz MN, Khatbab S, Foutouh IA, Mohsen EA. Chemical activation of oocytes in different types of sperm abnormalities in cases of low or failed fertilization after ICSI: a prospective pilot study. *Reprod Biomed Online*. 1 Jan 2006;13(6):791 – 4.
3. A Successful Healthy Childbirth in a Case of Total Globozoospermia with Oocyte Activation by Calcium Ionophore – PMC
4. Kochhar PK, Ghosh P. Intracytoplasmic Sperm Injection with Assisted Oocyte Activation Resulting in Successful Pregnancies and Live Birth in Couples with Globozoospermia: A Report of Two Cases. *J Hum Reprod Sci*. 2018;11(1):72 – 4.
5. Niu X, Ruan Q, Witz CA, Wang W. Comparison of Human Oocyte Activation Between Round – Headed Sperm Injection Followed by Calcium Ionophore Treatment and Normal Sperm Injection in a Patient With Globozoospermia. *Front Endocrinol*. 2020
6. Ebner T, Köster M, Shebl O, Moser M, Van der Ven H, Tews G, và c.s. Application of a ready – to – use calcium ionophore increases rates of fertilization and pregnancy in severe male factor infertility. *Fertil Steril*. 1 Dec 2012;98(6):1432 – 7.
7. Tejera A, Alegre L, Castello D, Mifsud A, Meseguer M. Improvement in reproductive outcome through artificial oocyte activation on fertilization failure cases: a cohort study. *Fertil Steril*. 1 Sep 2018;110(4):e221 – 2.
8. Bonte D, Ferrer – Buitrago M, Dhaenens L, Popovic M, Thys V, De Croo I, và c.s. Assisted oocyte activation significantly increases fertilization and pregnancy in patients with low and total failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection: a 17 – year retrospective study. *Fertil Steril*. 1 Aug 2019;112(2):266 – 74.
9. Shan Y, Zhao H, Zhao D, Wang J, Cui Y, Bao H. Assisted Oocyte Activation With Calcium Ionophore Improves Pregnancy Outcomes and Offspring Safety in Infertile Patients: A Systematic Review and Meta – Analysis. *Front Physiol*. 2022
10. Murugesu S, Saso S, Jones BP, Bracewell – Milnes T, Athanasiou T, Mania A, và c.s. Does the use of calcium ionophore during artificial oocyte activation demonstrate an effect on pregnancy rate? A meta – analysis. *Fertil Steril*. 1 Sep 2017;108(3):468 – 482.e3.
11. Mateizel I, Santos – Ribeiro S, Segers I, Wouters K, Mackens S, Verheyen G. Effect of A23187 ionophore treatment on human blastocyst development—a sibling oocyte study. *J Assist Reprod Genet*. 1 Jun 2022;39(6):1225 – 32.
12. Yin M, Li M, Li W, Wu L, Yan Z, Zhao J, và c.s. Efficacy of artificial oocyte activation in patients with embryo developmental problems: a sibling oocyte control study. *Arch Gynecol Obstet*. May 2022;305(5):1225 – 31.
13. Tsai TC, Chiung HK, Chen LH, Wu HM. The potential role of assisted oocyte activation in the management of a POSEIDON group 3 patient with fertilization failure: A case report and literature review. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 1 May 2021;60(3):567 – 9.
14. Tsai TE, Lin PH, Lian PF, Li CJ, Vitale SG, Mikuš M, và c.s. Artificial oocyte activation may improve embryo quality in older patients with diminished ovarian reserve undergoing IVF – ICSI cycles. *J Ovarian Res*. 9 Sep 2022;15(1):102.
15. Shebl O, Trautner PS, Enengl S, Reiter E, Allerstorfer C, Rechberger T, và c.s. Ionophore application for artificial oocyte activation and its potential effect on morphokinetics: a sibling oocyte study. *J Assist Reprod Genet*. 1 Dec 2021;38(12):3125 – 33.
16. Seo. Pe. Yin E. P – 214 Effect of artificial activation of oocytes (AOA – ICSI) on the ploidy status of the resultant blastocysts. A sibling – oocytes pilot study. *Hum Reprod*. 1 Jul 2021;36
17. Capalbo A, Ottolini CS, Griffin DK, Ubaldi FM, Handyside AH, Rienzi L. Artificial oocyte activation with calcium ionophore does not cause a widespread increase in chromosome segregation errors in the second meiotic division of the oocyte. *Fertil Steril*. 1 Mar 2016;105(3):807 – 814.e2.
18. Li B, Zhou Y, Yan Z, Li M, Xue S, Cai R, và c.s. Pregnancy and neonatal outcomes of artificial oocyte activation in patients undergoing frozen – thawed embryo transfer: a 6 – year population – based retrospective study. *Arch Gynecol Obstet*. 1 Oct 2019;300(4):1083 – 92.
19. Long R, Wang M, Yang QY, Hu SQ, Zhu LX, Jin L. Risk of birth defects in children conceived by artificial oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection: a meta – analysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 11 Dec 2020;18(1):123.
20. Meerschaut FV, D'Haeseleer E, Gysels H, Thienpont Y, Dewitte G, Heindryckx B, và c.s. Neonatal and neurodevelopmental outcome of children aged 3 – 10 years born following assisted oocyte activation. *Reprod Biomed Online*. 1 Jan 2014;28(1):54 – 63.