

# HIỆU QUẢ BỔ SUNG GRANULOCYTE MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR (GM-CSF) TRONG MÔI TRƯỜNG CẤY TRƯỜNG THÀNH NOÃN TRÊN TỈ LỆ TẠO PHÔI NANG Ở BỆNH NHÂN HIẾM MUỘN ĐIỀU TRỊ KỸ THUẬT TRƯỜNG THÀNH NOÃN (CAPA-IVM)

Phạm Dương Toàn<sup>1</sup>, Hồ Ngọc Anh Vũ<sup>1,2</sup>, Lê Hoàng Anh<sup>1,2</sup>, Vương Thị Ngọc Lan<sup>3</sup>

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) là một cytokine đa chức năng, giúp phôi phát triển hoàn chỉnh và tăng khả năng làm tổ của phôi. Bổ sung GM-CSF vào môi trường nuôi cấy phôi thụ tinh trong ống nghiệm cổ điển đã được nghiên cứu. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào trên người đánh giá hiệu quả của bổ sung GM-CSF vào môi trường cấy trường thành noãn trong kỹ thuật trường thành noãn (CAPA-IVM).

**Mục tiêu:** So sánh tỷ lệ tạo phôi nang của nhóm bệnh nhân điều trị CAPA-IVM có noãn được nuôi cấy trường thành trong môi trường có bổ sung GM-CSF với nhóm không bổ sung GM-CSF.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có nhóm chứng được thực hiện tại Đơn vị hỗ trợ sinh sản, bệnh viện Mỹ Đức. Bệnh nhân có hội chứng buồng trứng đa nang (PCOS) hoặc kiểu hình buồng trứng đa nang, tuổi dưới 37 được nhận vào nghiên cứu. Bệnh nhân được phân nhóm ngẫu nhiên tại thời điểm trước chọc hút noãn vào nhóm có noãn được nuôi cấy CAPA-IVM có hay không bổ sung GM-CSF.

**Kết quả:** Từ tháng 3 đến tháng 12/2021, có tổng cộng 80 bệnh nhân được nhận vào nghiên cứu, trong đó, có 40 bệnh nhân có noãn được nuôi cấy CAPA-IVM có bổ sung GM-CSF và 40 bệnh nhân có noãn được nuôi cấy CAPA-IVM không có bổ sung GM-CSF. Tỷ lệ tạo phôi nang được ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm (62,5% so với 55,2%,  $p=0,06$ ).

**Kết luận:** Chưa có bằng chứng rõ ràng về hiệu quả của việc bổ sung GM-CSF vào môi trường cấy trường thành noãn giúp cải thiện tỷ lệ tạo phôi nang ở bệnh nhân hiếm muộn điều trị kỹ thuật CAPA-IVM.

**Từ khóa:** thụ tinh trong ống nghiệm, trường thành noãn, GM-CSF, CAPA-IVM, phôi

## ABSTRACT

THE EFFECTIVENESS OF GRANULOCYTE MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR (GM-CSF) SUPPLEMENTATION ON THE BLASTULATION RATE IN WOMEN HAVING CAPA-IVM TREATMENT

Pham Duong Toan, Ho Ngoc Anh Vu, Le Hoang Anh, Vuong Thi Ngoc Lan

\* Ho Chi Minh City Journal of Medicine \* Vol. 26 - No 1 - 2022: 16-21

**Background:** Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) is expressed in the female genital tract, and as a developmental programming agent, which enhances cell proliferation, embryo progression, blastocyst hatching, and embryo implantation. In conventional in-vitro fertilization, GM-CSF has been studied as a supplement in culture medium with positive effect in outcome, however, no studies are investigating the effect of GM-CSF on the capability to mature and embryology outcomes of the immature oocytes in the pre-mature step of

<sup>1</sup>Trung tâm nghiên cứu HOPE, Bệnh viện Mỹ Đức, TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Đơn vị hỗ trợ sinh sản IVFMD, Bệnh viện Mỹ Đức, TP. Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Bộ môn Phụ Sản, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Tác giả liên lạc: BS. Phạm Dương Toàn   ĐT: 0986808979   Email: toan.pd@myduchospital.vn

CAPA-IVM on humans.

**Objective:** To compare the blastulation rate in patients who have immature oocytes cultured in CAPA-IVM medium supplemented with and without GM-CSF.

**Methods:** A randomized control trial was conducted at IVFMD, My Duc Hospital. Patients diagnosed with polycystic ovary syndrome or polycystic ovary morphology, aged <37 years, underwent CAPA-IVM treatment were included in the study. Randomisation was performed just prior to oocyte retrieval into group having oocytes cultured in CAPA medium supplemented with or without GM-CSF.

**Results:** From March to December 2021, a total of 80 patients were recruited to the study, of which, 40 were randomized to GM-CSF group and 40 without GM-CSF group. The blastulation rate was not significant different between two groups (62.5% vs 55.2%,  $p=0.06$ ).

**Conclusion:** There is not enough evidence to support the supplementation of GM-CSF to CAPA-IVM medium to improve the embryology outcomes in women treated with CAPA-IVM.

**Key words:** in-vitro fertilization, in-vitro maturation, GM-CSF, CAPA-IVM, embryos

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Kỹ thuật trưởng thành trứng noãn (*In-vitro* maturation - IVM) được xem là phương pháp điều trị hiếm muộn an toàn và giảm chi phí cho bệnh nhân PCOS<sup>(1)</sup>. Trong kỹ thuật IVM, bệnh nhân không thực hiện kích thích buồng trứng (KTBT) hoặc chỉ sử dụng một lượng tối thiểu FSH, hCG dưới dạng “mồi”, do đó, tránh được các biến chứng của KTBT như quá kích buồng trứng (QKBT), xoắn buồng trứng, xuất huyết buồng trứng... so với các chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON) có KTBT<sup>(2)</sup>. Hiện nay, đã có hơn 4000 em bé ra đời từ kỹ thuật IVM trên thế giới. Không có báo cáo nào ghi nhận có sự gia tăng tỉ lệ bất thường hay rối loạn phát triển ở các trẻ này<sup>(3)</sup>. Giai đoạn đầu của sự phát triển của kỹ thuật IVM, sự trưởng thành noãn người chỉ vào khoảng 30-50%, thấp hơn nhiều so với các chu kỳ có kích thích buồng trứng và tỉ lệ thai của IVM vẫn còn thấp<sup>(4)</sup>. Việc hiểu về cơ chế trưởng thành của noãn giúp ngày càng hoàn thiện điều kiện nuôi cấy trưởng thành và cải thiện tỉ lệ thành công của IVM. Một trong các lý do làm cho noãn non được nuôi cấy trưởng thành *in-vitro* có tiềm năng phát triển phôi kém hơn TTTON là sự không đồng bộ giữa trưởng thành của hạt nhân và tế bào chất của noãn IVM. Theo Pincus, Chang và Edwards, khi còn trong buồng trứng, noãn ở các giai đoạn trưởng thành khác nhau, sau khi được chọc hút noãn lấy ra ngoài,

noãn sẽ tự khôi phục giảm phân. Để đồng bộ hóa sự trưởng thành của nhân và tế bào chất, môi trường trưởng thành noãn CAPA-IVM có bổ sung CNP đã được áp dụng và ghi nhận có hiệu quả cải thiện tỉ lệ trưởng thành noãn và chất lượng phôi<sup>(5)</sup>.

GM-CSF là một yếu tố tăng trưởng quan trọng, giúp tăng khả năng phát triển và làm tổ của phôi. GM-CSF đã được nghiên cứu trong TTTON trên người để điều trị cho các trường hợp sảy thai liên tiếp<sup>(6)</sup>. Một nghiên cứu gần đây trên động vật đã ghi nhận bổ sung GM-CSF vào môi trường IVM có thể cải thiện tỷ lệ tạo phôi nang của kỹ thuật này. Chưa có nghiên cứu bổ sung GM-CSF vào môi trường nuôi cấy trưởng thành noãn trong kỹ thuật CAPA-IVM. Bệnh viện Mỹ Đức đã thực hiện thành công CAPA-IVM từ năm 2016. Chúng tôi đã thực hiện thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có nhóm chứng so sánh CAPA-IVM và TTTON và ghi nhận không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ trẻ sinh sống giữa 2 kỹ thuật này<sup>(7)</sup>. Tuy nhiên, trong nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng này, chúng tôi chỉ thực hiện chuyển phôi ngày 3. Với mong muốn tăng tỷ lệ tạo phôi nang của kỹ thuật CAPA-IVM, chúng tôi thực hiện nghiên cứu bổ sung GM-CSF vào môi trường nuôi cấy trưởng thành noãn với giả thuyết rằng việc bổ sung GM-CSF vào môi trường nuôi cấy IVM ở người sẽ làm tăng tỷ lệ tạo phôi nang tương đương với

tỷ lệ từ kỹ thuật thụ tinh ống nghiệm, giúp cho kỹ thuật CAPA-IVM trở thành một lựa chọn lâm sàng khả thi cho những bệnh nhân thực hiện hỗ trợ sinh sản. Mục tiêu của nghiên cứu này là so sánh tỷ lệ tạo phôi nang của nhóm bệnh nhân điều trị CAPA-IVM có noãn được nuôi cấy trưởng thành trong môi trường có bổ sung GM-CSF với nhóm không bổ sung GM-CSF.

## **ĐỐI TƯỢNG-PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **Đối tượng nghiên cứu**

Các bệnh nhân được điều trị bằng kỹ thuật trưởng thành noãn non CAPA-IVM. Nghiên cứu được thực hiện tại đơn vị hỗ trợ sinh sản, bệnh viện Mỹ Đức (IVFMD), TP.HCM từ tháng 3/2021 đến tháng 12/2021.

### **Tiêu chuẩn chọn mẫu**

Bệnh nhân được nhận vào nghiên cứu nếu thỏa các tiêu chuẩn chọn mẫu như sau:

### **Tiêu chuẩn nhận**

Bệnh nhân có hội chứng buồng trứng đa nang hoặc kiểu hình buồng trứng đa nang (có tối thiểu 25 nang đường kính từ 2 đến 9mm trên siêu âm).

Tuổi <37.

Được thực hiện kỹ thuật trưởng thành noãn non CAPA-IVM để điều trị hiếm muộn.

### **Tiêu chuẩn loại**

Xin noãn.

Thực hiện chẩn đoán di truyền tiền làm tổ.

### **Phương pháp nghiên cứu**

#### **Thiết kế nghiên cứu**

Nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có nhóm chứng.

#### **Cỡ mẫu**

Cỡ mẫu của nghiên cứu được ước tính theo công thức so sánh hai giá trị trung bình. Trong đó, tỉ lệ tạo phôi nang trung bình ở nhóm CAPA-IVM không bổ sung GM-CSF tại IVFMD là 49%. Với giả định việc bổ sung GM-CSF vào môi trường CAPA-IVM sẽ giúp tăng tỉ lệ tạo phôi nang trung bình thêm 9%. Thì cỡ

mẫu cần thiết cho nghiên cứu là 80 bệnh nhân (40 bệnh nhân mỗi nhóm) trong đó sai lầm loại I là 0,05 (hai đuôi), lực cỡ mẫu là 80% và độ lệch chuẩn là 20%.

### **Phân bố ngẫu nhiên**

Bệnh nhân được giải thích về nghiên cứu và ký đồng thuận tham gia nghiên cứu. Bệnh nhân được phân nhóm ngẫu nhiên bằng phương pháp ngẫu nhiên theo khối với tỉ lệ 1:1 vào nhóm có bổ sung GM-CSF hoặc nhóm không bổ sung GM-CSF (Nhóm chứng). Người thực hiện ngẫu nhiên độc lập với nhóm nghiên cứu.

### **Phương pháp tiến hành**

Bệnh nhân được tiêm HP-hMG với liều là 150IU/ngày bắt đầu từ ngày 2 của chu kỳ kinh trong 2 ngày. Chọc hút noãn được tiến hành 42-46 giờ sau khi tiêm mũi HP-hMG cuối cùng.

Sau chọc hút noãn, các phức hợp noãn-tế bào quanh noãn được nuôi cấy tiền trưởng thành trong môi trường CAPA có và không có bổ sung GM-CSF trong 24 giờ. Sau khi nuôi cấy CAPA, noãn sẽ được chuyển vào môi trường IVM có bổ sung GM-CSF (Nhóm GM-CSF) hay không bổ sung GM-CSF (Nhóm chứng).

Đánh giá trưởng thành noãn và tách noãn được tiến hành sau 30 và 32 giờ sau cấy IVM ở cả 2 nhóm. Noãn trưởng thành được thụ tinh bằng kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI). Noãn sau đó sẽ được nuôi trong tủ cấy ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>. Kiểm tra thụ tinh được tiến hành 16-18h sau ICSI. Phôi được nuôi cấy đến ngày 5/6 trong môi trường (Life Global®, Canada). Mỗi giọt môi trường nuôi cấy phôi có thể tích 30 µL, chứa 1 noãn. Vào ngày 3 và 5 hay 6, phôi được đánh giá hình thái và phân loại theo đồng thuận Istanbul<sup>(6)</sup>. Các phôi đủ tiêu chuẩn sẽ được trữ lạnh lại theo phương pháp thủy tinh hoá sử dụng môi trường Cryotec®, Nhật Bản.

### **Kết cục của nghiên cứu**

Kết cục chính: tỷ lệ tạo phôi nang.

Kết cục phụ: tỷ lệ trưởng thành noãn, tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi ngày 3.

**Quản lý và xử lý số liệu**

Đặc điểm bệnh nhân được phân tích mô tả trong đó biến liên tục sẽ được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn hoặc trung vị và khoảng tứ phân vị, biến định tính được trình bày dưới dạng số tuyệt đối và phần trăm.

Các kết quả phôi học được so sánh giữa hai nhóm bằng kiểm định phi tham số. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm R (Phiên bản 3.3.3).

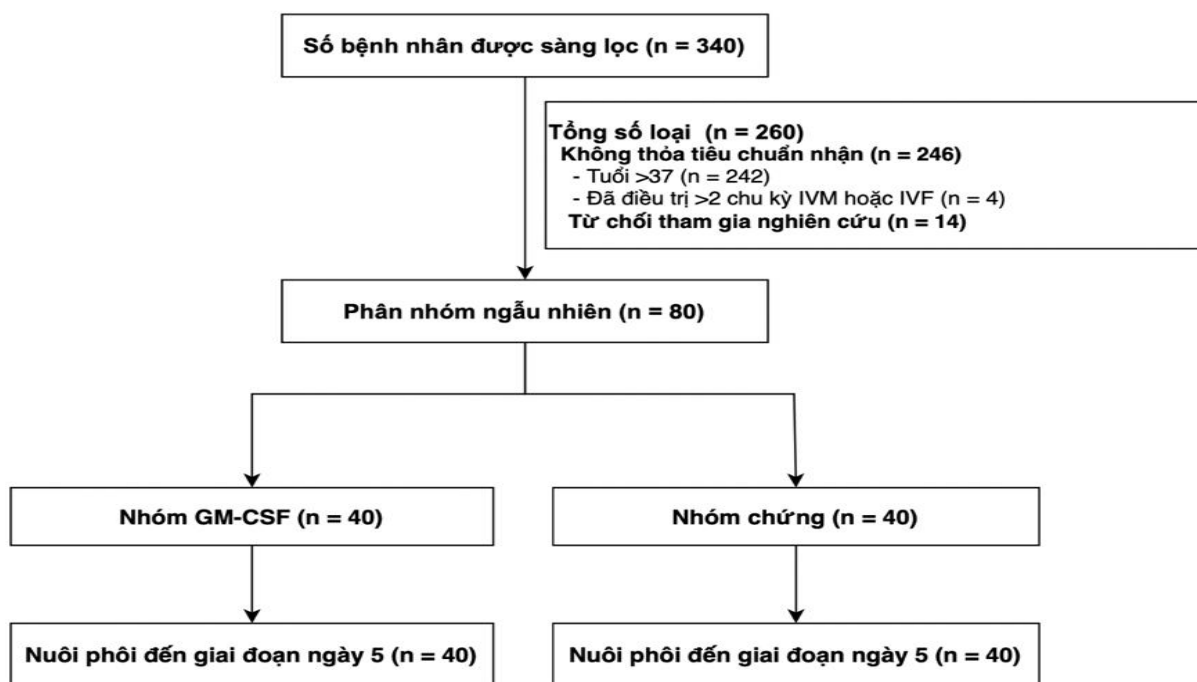
Giá trị  $p < 0,05$  được xem là có ý nghĩa thống kê.

**Y đức**

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Bệnh viện Đa khoa Mỹ Đức, số 01/2021/MD-HĐĐĐ, ngày 22 tháng 02 năm 2021.

**KẾT QUẢ**

Từ tháng 3 đến tháng 12/2021, có 80 bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn nhận – loại, đồng ý tham gia nghiên cứu được nhận vào nghiên cứu. Phân bố bệnh nhân trong nghiên cứu được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Lưu đồ nhận bệnh và phân nhóm ngẫu nhiên

Không có sự khác biệt về đặc điểm nền và đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân ở hai nhóm. Đặc điểm của bệnh nhân được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm nền và đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân

Đặc điểm	Nhóm GM-CSF (N=40)	Nhóm chứng (N=40)	Giá trị P
Tuổi, năm	29,62±3,68	30,15±2,94	0,483
Chỉ số khối cơ thể, kg/m <sup>2</sup>	22,22±3,75	23,11±3,32	0,27
Nồng độ AMH, ng/ml	6,63 [4,78;9,25]	8,06 [5,56;10,80]	0,166
Nồng độ FSH, IU/L	6,03 [4,50;7,32]	5,68 [4,49;6,73]	0,227

Đặc điểm	Nhóm GM-CSF (N=40)	Nhóm chứng (N=40)	Giá trị P
Nồng độ SHBG, nmol/L	40,88 [25,31;67,90]	36,72 [25,58;59,82]	0,82
Testosterone, nmol/L	1,30 [0,99;1,50]	1,05 [0,70;1,54]	0,415
Thời gian vô sinh, năm	2,00 [1,00;3,25]	2,00 [1,25;4,00]	0,88
Nguyên nhân vô sinh, n (%)			0,78
Nguyên phát	31 (77,50%)	33 (82,50%)	
Thứ phát	9 (22,50%)	7 (17,50%)	
Số chu kỳ TTON, n, (%)			0,99
1	38 (95,00%)	37 (92,50%)	
2	2 (5,00%)	3 (7,50%)	

AMH: Anti-mullerian hormone, FSH: Follicle-stimulating hormone, SHBG: Sex hormone binding globulin

Kết quả phôi học của noãn thu được từ 2 nhóm được trình bày trong *Bảng 2*.

**Bảng 2.** Kết quả phôi học giữa hai nhóm môi trường nuôi cấy

	Nhóm GM-CSF (N = 40)	Nhóm chứng (N = 40)	Giá trị P
Số noãn chọc hút	14,00 [11,00-22,00]	20,00 [13,50-25,00]	0,135
Số noãn được làm ICSI	10,00 [7,00-15,00]	12,50 [7,75-16,00]	0,36
Tỷ lệ trưởng thành noãn (MII), (%)	65,94 [57,14-75,48]	65,45 [51,50-70,00]	0,307
Tỷ lệ thụ tinh, (%)	71,43 [62,48-84,59]	75,74 [61,35-85,71]	0,946
Tỷ lệ tạo phôi ngày 3 trên số ICSI, (%)	50,00 [41,25-62,50]	50,00 [36,46-68,87]	0,813
Tỷ lệ tạo phôi ngày 3 trên số thụ tinh, (%)	71,43 [56,08-84,38]	74,17 [60,00-84,89]	0,629
Tỷ lệ tạo phôi nang trên số ICSI, (%)	23,61 [12,23-36,79]	16,72 [12,01-31,77]	0,334
Tỷ lệ tạo phôi nang trên số thụ tinh, (%)	33,33 [16,76-50,96]	25,00 [15,11-50,96]	0,42
Tỷ lệ không có phôi nang, (%)	7 (17,50%)	7 (17,50%)	0,99

**BÀN LUẬN**

Đây là nghiên cứu đầu tiên trên người đánh giá vai trò của GM-CSF trong môi trường tiền trưởng thành noãn CAPA-IVM. Với nguyên lý cơ bản là tác động của GM-CSF lên các tế bào cummulus có thể dẫn đến việc hấp thụ glucose cao hơn, hỗ trợ tăng sinh tế bào hoặc tăng cường khả năng sống sót của tế bào cummulus, tăng cường giãn nở của khối tế bào cummulus quanh noãn. Từ đó, cải thiện tỷ lệ trưởng thành của noãn và phát triển của phôi sau nuôi cấy IVM.

**Kết quả nghiên cứu**

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành so sánh môi trường tiền trưởng thành noãn CAPA-IVM có bổ sung và không bổ sung GM-CSF. Kết quả của nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt liên quan đến tỷ lệ tạo phôi nang tính theo số chu kỳ ICSI và số noãn thụ tinh (lần lượt 23,61% so với 16,72%, p=0,334; 33,33% so với 25%, p=0,42). Chưa có nghiên cứu bổ sung GM-CSF trong kỹ thuật IVM. Tuy nhiên, các nghiên cứu bổ sung GM-CSF trong TTON trên người và mô hình động vật đều ghi nhận nhiều ảnh

hưởng tích cực của GM-CSF lên kết cục phôi và thai. Nghiên cứu của Sjöblom C (1999) ghi nhận việc bổ sung GM-CSF vào môi trường nuôi cấy phôi TTON giúp tăng tỷ lệ tạo phôi nang từ 30% lên 76%<sup>(9)</sup>. Nghiên cứu này cũng ghi nhận năng lực của phôi nang cũng được cải thiện sau bổ sung GM-CSF, thể hiện qua khả năng thoát màng và bám vào khối chất nền ngoại bào của đĩa nuôi cấy. Ngoài ra, số lượng phôi bào của khối tế bào bên trong (ICM) của phôi sau bổ sung GM-CSF cũng tăng hơn 35% so với phôi nuôi cấy từ môi trường không bổ sung GM-CSF. Một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng đa trung tâm, mù đôi thực hiện tại 4 trung tâm TTON tại Bắc Âu trên 1149 chu kỳ điều trị (có bổ sung GM-CSF là 564 và không bổ sung là 585 chu kỳ). Tỷ lệ trẻ sinh sống ở nhóm có bổ sung cao hơn ở nhóm có bổ sung GM-CSF so với nhóm không bổ sung GM-CSF (28,9% so với 24,1%, OR 1,35, khoảng tin cậy 95% 1,03–1,78). Một nghiên cứu hồi cứu trên 212 chu kỳ điều trị TTON trên nhóm phụ nữ trên 35 tuổi (117 có bổ sung GM-CSF và 95 không bổ sung GM-CSF) cũng ghi nhận không có khác biệt của việc bổ sung GM-CSF lên chất lượng phôi. Tuy nhiên, tỷ lệ sẩy thai sinh hoá ở nhóm có bổ sung thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không bổ sung (20,8% so với 55,6%, p <0,05). Điều này gợi ý về vai trò của GM-CSF trong việc cải thiện tiềm năng làm tổ của phôi nang ở phụ nữ lớn tuổi<sup>(10,11)</sup>. Ở một khía cạnh khác, Chen P (2021) ghi nhận sự có mặt của GM-CSF trong môi trường nuôi cấy đơn phôi nang có liên quan đến chất lượng phôi và kết cục thai sau chuyển phôi. Tỷ lệ phôi nang chất lượng tốt cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm phôi có nồng độ GM-CSF cao so với trung bình và thấp (80% so với 53,57% và 49,21%, p=0,01)<sup>(12)</sup>.

Ngược lại, một phân tích gộp công bố trên thư viện Cochrane của Armstrong S (2020) lại ghi nhận chưa có bằng chứng rõ ràng về hiệu quả thực sự của bổ sung GM-CSF trong kỹ thuật TTON trên tỷ lệ trẻ sinh sống (OR 1,19, khoảng tin cậy 95% 0,93 – 1,52, 2 nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng, N=1432, I<sup>2</sup>=69%, chất lượng bằng

chứng thấp)<sup>(13)</sup>.

Trong nghiên cứu này, bổ sung GM-CSF vào môi trường cấy trứng thành noãn của kỹ thuật CAPA-IVM không cho thấy có khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tạo phôi nang so với nhóm chứng. Tuy nhiên, kết quả có xu hướng cao hơn ở nhóm có bổ sung GM-CSF. Đây có thể là bằng chứng bước đầu về hiệu quả của GM-CSF trong kỹ thuật CAPA-IVM, tạo cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

**Điểm mạnh và hạn chế của nghiên cứu**

Điểm mạnh của nghiên cứu này là thiết kế nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có nhóm chứng giúp xác định mối liên hệ giữa can thiệp và kết cục. Nghiên cứu đầu tiên thực hiện bổ sung GM-CSF trong môi trường nuôi cấy trứng thành noãn CAPA-IVM. Tuy nhiên, hạn chế của nghiên cứu là cỡ mẫu chưa đủ để xác nhận sự khác biệt về tỷ lệ tạo phôi nang giữa 2 nhóm nghiên cứu và kết cục không phải là tỷ lệ trẻ sinh sống.

**KẾT LUẬN**

Chưa có đủ bằng chứng rõ ràng về hiệu quả của việc bổ sung GM-CSF vào môi trường cấy trứng thành noãn giúp cải thiện tỷ lệ tạo phôi nang trong kỹ thuật CAPA-IVM.

**Lời cảm ơn**

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số FWO.106-YS.2017.02.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Child TJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL (2021). In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated normal ovaries, polycystic ovaries, and women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 76(5):936–942.
2. Child TJ, Phillips SJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL (2002). A comparison of in vitro maturation and in vitro fertilization for women with polycystic ovaries. *Obstetrics & Gynecology*, 100(4):665–670.
3. Luciano AM, Sirard M-A (2018). Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation. *Biology of Reproduction*, 98(2):162–169.

4. Sánchez F, Romero S, De Vos M, Verheyen G, Smits J (2015). Human cumulus-enclosed germinal vesicle oocytes from early antral follicles reveal heterogeneous cellular and molecular features associated with in vitro maturation capacity. *Human Reproduction*, 30(6):1396–1409.
5. Sánchez F, Lolicato F, Romero S, De Vos M, Van Ranst H, Verheyen G, Anckaert E, Smits JEJ (2017). An improved IVM method for cumulus-oocyte complexes from small follicles in polycystic ovary syndrome patients enhances oocyte competence and embryo yield. *Human Reproduction*, 32(10):2056–2068.
6. Scarpellini F, Sbracia M (2009). Use of granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: a randomised controlled trial. *Human Reproduction*, 24(11):2703–2708.
7. Vuong LN, Ho VNA, Ho TM, Dang VQ, Phung TH, Giang NH, Le AH, Pham TD, Wang R, Smits J, Gilchrist RB, Norman RJ, Mol BW (2020). 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*, 35(11):2537–2547.
8. Alpha Scientists in Reproductive Medicine, ESHRE Special Interest Group Embryology (2011). Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Reproductive Biomedicine Online*, 22(6):632–646.
9. Sjöblom C, Wikland M, Robertson SA (1999). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor promotes human blastocyst development in vitro. *Human Reproduction*, 14(12):3069–3076.
10. Zhou W, Chu D, Sha W, Fu L, Li Y (2016). Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor supplementation in culture medium on embryo quality and pregnancy outcome of women aged over 35 years. *The Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 33(1):39–47.
11. Ziebe S, Loft A, Povlsen BB, Erb K, Agerholm I, Aasted M, Gabrielsen A, Hnida Cm Zobel DP, Munding B, Bendz SH, Robertson SA (2013). A randomized clinical trial to evaluate the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in embryo culture medium for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 99(6):1600–1609.
12. Chen P, Huang C, Sun Q, Zhong H, Xiong F, Liu S, Yao Z, Liu Z, Wan C, Zeng Y, Diao L (2021). Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor in Single Blastocyst Conditioned Medium as a Biomarker for Predicting Implantation Outcome of Embryo. *Frontiers in Immunology*, 12:679839.
13. Armstrong S, MacKenzie J, Woodward B, Pacey A, Farquhar C (2020). GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor) supplementation in culture media for women undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 16;7:CD013497.

Ngày nhận bài báo: 16/12/2021  
 Ngày nhận phản biện nhận xét bài báo: 10/02/2022  
 Ngày bài báo được đăng: 15/03/2022