

# **ĐỒNG THUẬN ĐÁNH GIÁ VÀ PHÂN LOẠI NOÃN, PHÔI TRONG HỖ TRỢ SINH SẢN**



HỘI PHỤ SẢN KHOA VÀ SINH ĐẼ CÓ KẾ HOẠCH VIỆT NAM (VINAGOFPA)  
CHI HỘI Y HỌC SINH SẢN VIỆT NAM (VSRM)  
2012





# **ĐỒNG THUẬN ĐÁNH GIÁ VÀ PHÂN LOẠI NOÃN, PHÔI TRONG HỖ TRỢ SINH SẢN**

VSRM - ĐT - Đánh giá phôi - 1.0 - 19/08/2012

Đồng thuận được soạn thảo và in ấn với sự hỗ trợ của



# ĐẠI CƯƠNG

Mục đích của việc đánh giá phôi trong chương trình hỗ trợ sinh sản (HTSS) là tăng tỉ lệ thành công, tạo ra được những em bé khỏe mạnh, đồng thời khống chế tỉ lệ đa thai. Tuy nhiên phương pháp đánh giá chất lượng phôi được xây dựng nhưng cho đến nay, hệ thống đánh giá bằng hình thái vẫn được xem là vũ khí mạnh nhất cho các nhà phôi học lâm sàng nhằm tìm ra những phôi có chất lượng tốt nhất để chuyển vào buồng tử cung của bệnh nhân. Việc đánh giá chất lượng phôi đều thực hiện chủ yếu dựa trên tốc độ phát triển và các yếu tố hình thái khi quan sát phôi dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại lớn. Tuy nhiên, tùy theo điều kiện và quan điểm của mỗi trung tâm, nhiều hệ thống đánh giá phôi khác nhau được xây dựng và điều này tạo ra sự đa dạng nhưng cũng gây không ít khó khăn để so sánh hoặc liên hệ giữa các trung tâm với nhau, nếu như không muốn nói là không thể. Nếu cách đánh giá phôi được đồng thuận giữa các trung tâm trong một quốc gia hoặc trên toàn thế giới, giá trị về thông tin của phôi sẽ trở nên hữu ích hơn, dễ sử dụng hơn trong các thử nghiệm lâm sàng, cũng như trong đánh giá kết quả nghiên cứu khi áp dụng một kỹ thuật mới. Ngoài ra, nó còn hỗ trợ rất nhiều cho việc triển khai những nghiên cứu đa trung tâm trong cùng một quốc gia, cũng như trên toàn thế giới.

Mục đích của hướng dẫn này nhằm đưa ra những quan điểm đồng thuận về cách đánh giá noãn, hợp tử và phôi từ giai đoạn phân chia đến phôi nang giữa các chuyên gia phôi học ở Việt Nam.

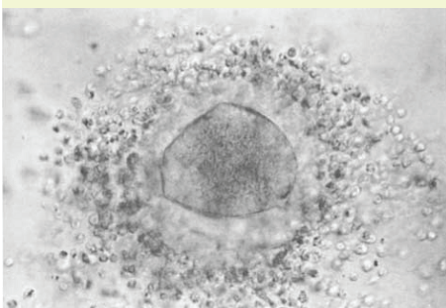
Đồng thuận được biên soạn dựa trên đồng thuận của các nhà khoa học thuộc 2 hiệp hội chuyên ngành lớn là Alpha (Hiệp hội Các nhà phôi học thế giới) và ESHRE (Hiệp hội Sinh sản và Phôi học người Châu Âu). Đồng thuận này được công bố vào năm 2011 trên các tạp chí chuyên ngành quan trọng là Human Reproduction and Reproductive BioMedicine Online. Nhóm biên soạn cũng đã bổ sung thêm những thông tin mới trên y văn cũng như một số kinh nghiệm thực tế ở Việt Nam.

# ĐÁNH GIÁ VÀ PHÂN LOẠI NOÃN



**Hình 1.** OCC trưởng thành và chưa trưởng thành (Nguồn: IVFAS)

**A:** OCC trưởng thành với các lớp tế bào hạt (cumulus) và tế bào vành tia (corona) giãn rộng; **B:** OCC chưa trưởng thành với các lớp tế bào hạt giãn rộng nhưng tế bào vành tia còn nén chặt



**Hình 2.** Khối OCC thoái hóa hay bất thường (Nguồn: R.Arisio, Torino)

Sau khi thu nhận, noãn thường ở nhiều trạng thái chất lượng (integrity), giai đoạn trưởng thành (maturation) và khả năng sống (viability) khác nhau.

## ĐÁNH GIÁ PHỨC HỢP TẾ BÀO NOÃN (OCC – Oocyte cumulus complexes)

Khối phức hợp tế bào noãn (OCC) thường được thu nhận vào thời điểm 34-36 giờ sau khi tiêm mũi thuốc kích thích rụng noãn. Đánh giá chất lượng khối OCC có thể được thực hiện thông qua hình thái của lớp tế bào hạt và tế bào vành tia, chủ yếu là độ giãn nở hay nén chặt của các tế bào này đối với noãn bào, từ đó, có thể đánh giá được sự trưởng thành của noãn (Veek, 1986). Hiện nay, cấu trúc hình thái OCC được đánh giá ở các dạng: khối OCC chưa trưởng thành (immature OCC) cho đến dạng trưởng thành (mature OCC) hay quá trưởng thành (post-mature OCC) (Hình 1). Một dạng đặc biệt là cấu trúc khối OCC thoái hóa hay bất thường (degenerative OCC hay atretic OCC) (Hình 2).

Hình ảnh cho thấy những khối tế bào hạt đang bao quanh một tế bào noãn hình dạng bất thường với rất nhiều hạt thô cô đặc bên trong bào tương, cùng với một phần màng trong suốt bị tổn thương.

## ĐÁNH GIÁ ĐỘ TRƯỞNG THÀNH CỦA NOÃN

### Trưởng thành nhân (nucleus maturation)

Trưởng thành nhân của noãn thường chỉ được đánh giá trong các chu kỳ thực hiện tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI), sau khi các tế bào hạt và tế bào vành tia đã được loại bỏ. Về hình thái thông thường,



**Hình 3.** Noãn ở các giai đoạn phát triển khác nhau (Nguồn: IVFAS)

**A:** Noãn GV với túi nhân (mũi tên),  
**B:** Noãn MI, **C:** Noãn MII với thể cực thứ 1 (mũi tên)

những noãn còn ở giai đoạn GV (germinal vesicle), trạng thái nhân vẫn còn ở dạng túi hình cầu có chứa 1 hạt nhân to. Giai đoạn MI được xác định từ lúc noãn ở trạng thái không có sự hiện diện của túi nhân (GV) và chưa xuất hiện thể cực thứ nhất. Noãn trưởng thành MII thường được nhận dạng bởi sự hiện diện của thể cực thứ nhất trong khoang quanh noãn (PVS) (Hình 3).

### Trưởng thành tế bào chất (ooplasmic maturation)

Sự trưởng thành về bào tương noãn thường đi kèm với việc không xuất hiện các hình thái bất thường trong bào tương noãn, cùng với sự di chuyển của những thể hạt vỏ từ bộ Golgi đến ngay bên dưới bề mặt noãn, với vai trò quan trọng trong ngăn ngừa hiện tượng đa thụ tinh.

### MỘT SỐ HÌNH THÁI BẤT THƯỜNG CỦA NOÃN (oocyte dysmorphisms)

Nhìn chung, noãn MII bình thường có cấu trúc hình cầu, màng trong suốt đồng nhất, đều màu và sáng trong, khoang PVS nhỏ chỉ chứa thể cực thứ nhất không bị phân mảnh và có kích thước hợp lý (100-150 $\mu$ m), bào tương có màu vàng nhạt, chất lượng hạt không quá to và thô, không chứa những thể vùi (Alikani và cs., 1995; Ebner và cs., 2000a; 2006b) (Hình 3c). Ngoài ra, noãn phải trưởng thành cả về nhân lẫn tế bào chất.

### Đánh giá thể cực thứ nhất (first polar body)

Hình thái của thể cực thứ nhất được một số tác giả đề nghị là nhân tố có liên quan đến sự thụ tinh và chất lượng phôi sau ICSI (De Santis và cs., 2005; Ebner và cs., 2000). Hiện nay, cấp độ đánh giá thể cực thứ nhất thường được ghi nhận từ độ 1 đến độ 4 tùy theo mức độ toàn vẹn của thể cực thứ nhất vào thời điểm ICSI (Ebner và cs., 2000) (Hình 4.1). Ngoài ra, noãn có thể cực lớn một cách bất thường không nên cho kết hợp với tinh trùng vì có khả năng tạo ra phôi bị lệch bội nhiễm sắc thể cao (Alpha, 2011).

### Đánh giá khoang quanh noãn (PVS – Perivitelline space)

Độ rộng của khoang quanh noãn được cho là có ảnh hưởng đến khả năng sống của noãn (Ebner và cs., 2001; Plachot và cs., 2002), tỉ lệ thụ tinh (Rienzi và cs., 2008) sau ICSI, cũng như tình trạng phân mảnh bào tương của phôi về sau (Hình 4.2).

## Đánh giá chất lượng bào tương (Cytoplasm quality)

Chất liệu bào tương là một trong những đặc tính được sử dụng trong đánh giá chất lượng noãn (Kahraman và cs., 2000; Rienzi và cs., 2008).

- **Độ mịn của bào tương (granularity)**

Chất liệu bào tương hay sự hiện diện của các quầng hạt thô (CG – central granularity) là một trong những nhân tố có thể ảnh hưởng đến kết quả thụ tinh cũng như chất lượng phôi sau này. Cấp độ đánh giá CG tùy theo độ dày đặc của quầng hạt bào tương thô từ dạng nhẹ (cấp 1) cho đến dạng nghiêm trọng (cấp 4) (Hình 4.3).

- **Thể vùi (inclusion hay refractile body)**

Khi quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược, các thể vùi là các túi nhỏ dạng lipofuscin, được cho là phức hợp giữa thành phần lipid và vật liệu cô đặc, đậm màu từ bào tương (brown particles) (Otsuki và cs., 2007). Những thể vùi này khi có kích thước lớn (>5µm) có thể ảnh hưởng đến khả năng thụ tinh cũng như quá trình phát triển của phôi nang sau này (Kahraman và cs., 2000) (Hình 4.4).

- **Lưới nội chất trơn (SER – smooth endoplasmic reticulum)**

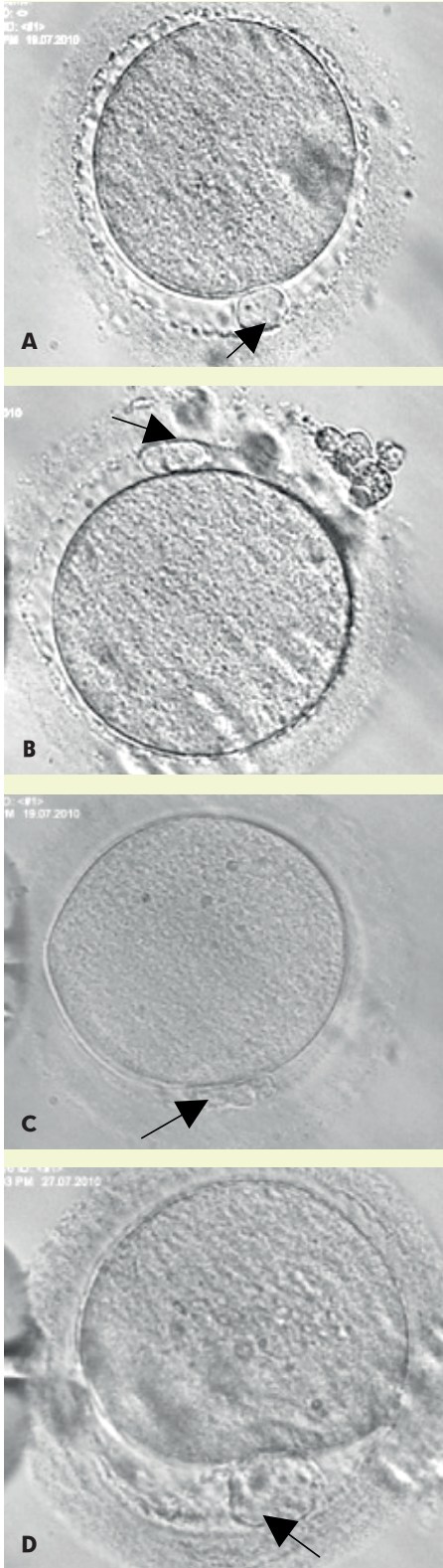
SER là một thành phần bào quan không thể thiếu trong tế bào, ở dạng đĩa, có chức năng tổng hợp lipid và carbohydrate, cũng như đóng vai trò làm khu vực trung chuyển các sản phẩm của lưới nội chất đến những nơi khác trong tế bào chất. Những noãn MII khi có sự hiện diện của SER tại trung tâm bào tương sẽ có thể thụ tinh bình thường nếu ICSI không gây ra vỡ SER (Ebner và cs., 2008a) (Hình 4.5).

- **Không bào (vacuolization)**

Không bào là một dạng thể vùi của bào tương có màng bao quanh, ở dạng túi hình cầu chứa đầy dịch cần loại bỏ ra khỏi noãn (chất cặn bã trong tế bào), có dạng giống chất dịch trong PVS. Sự hiện diện của không bào (>14µm) thường gây nên những hậu quả bất lợi đối với tỉ lệ thụ tinh và sự phát triển của phôi sau này (Ebner và cs., 2005) (Hình 4.6). Ở những noãn thụ tinh, những không bào này xuất hiện sau giai đoạn 2 PN tiến sát nhau (syngamy) có thể gây trở ngại đối với các mặt phẳng phân chia, kết quả là làm giảm tỉ lệ tạo phôi nang.

- **Một số dấu hiệu bất thường khác**

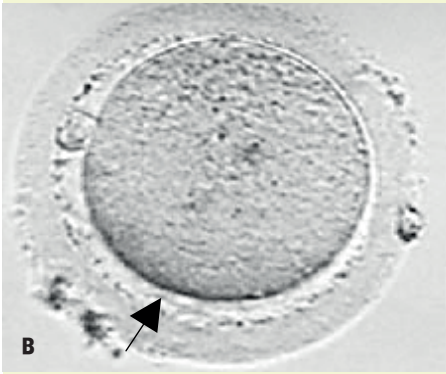
**Noãn khổng lồ (giant oocytes):** noãn có chứa thêm 1 bộ nhiễm sắc thể và thể tích bào tương tăng gấp nhiều lần so với các noãn bình



**Hình 4.1.** Tiêu chuẩn phân loại hình thái thể cực thứ nhất (200X) (Nguồn: IVFAS)

**PB 1:** Dạng tròn hoặc oval, bề mặt trơn láng (A); **PB 2:** Dạng tròn hoặc bầu dục, bề mặt nhẵn (B); **PB 3:** Thể cực phân mảnh (C); **PB 4:** To, bất thường, thoái hóa hoặc có nhiều hơn hai thể cực (D)





**Hình 4.2.** Tiêu chuẩn phân loại hình thái khoang quanh noãn (200X)  
(Nguồn: IVFAS)

**PVS1:** Bình thường, độ rộng vừa phải, không có hạt (A); **PVS 2:** Rộng ở một phần quanh noãn, không có hạt (B); **PVS 3:** Rộng hết toàn bộ chu vi quanh noãn (C); **PVS 4:** Rộng và xuất hiện hạt trong khoang PVS (D)

thường (Hình 4.8). Nếu được cho kết hợp với tinh trùng, noãn khổng lồ cũng có khả năng thụ tinh và phân chia tạo thành phôi, cũng như phát triển đạt đến giai đoạn phôi nang. Tuy nhiên, những phôi phát triển từ loại noãn này có khả năng làm tổ thấp và nguy cơ sẩy thai cao nếu chuyển phôi (Alpha, 2011).

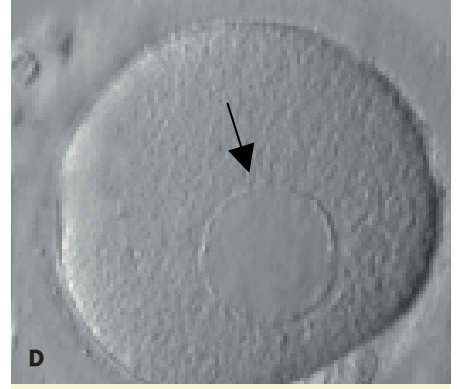
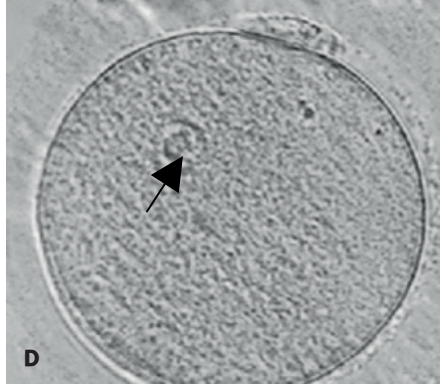
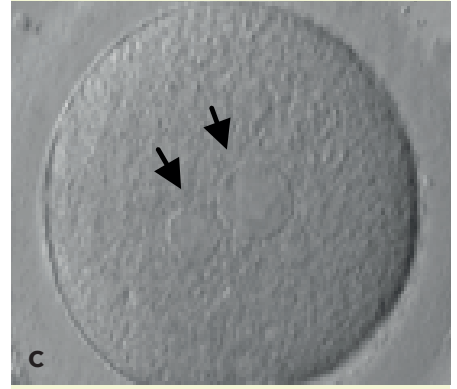
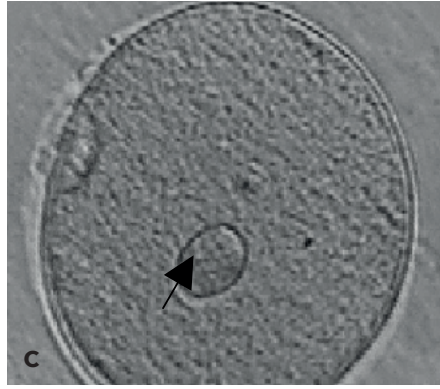
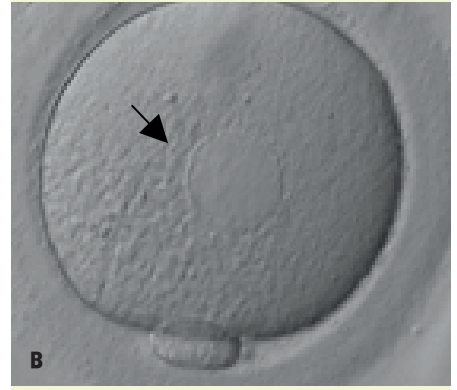
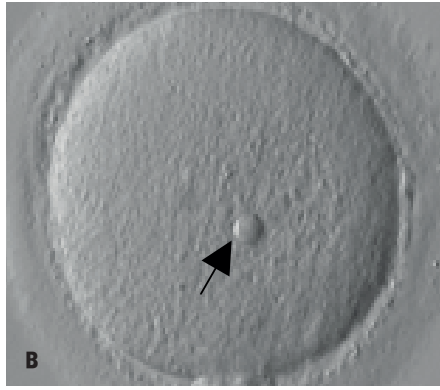
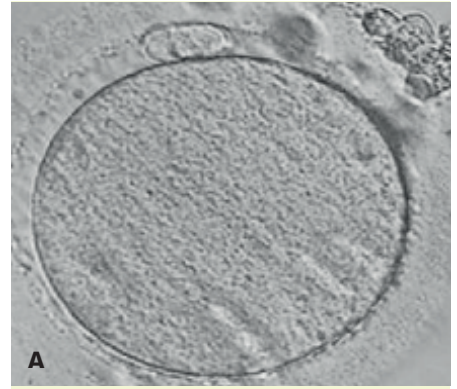
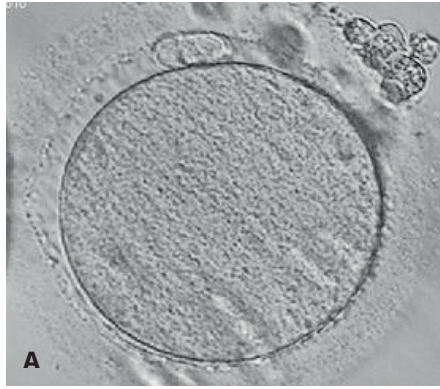
**Bào tương dính (sticky cytoplasm):** noãn có bào tương rất dính thường dễ gây tổn thương cho khung xương của noãn trong quá trình ICSI, cũng như ảnh hưởng đến khả năng hồi phục màng tế bào chất sau ICSI. Kết quả là hiện tượng thoái hóa noãn xảy ra.

**Màng bào tương mỏng (fragile oocyte membrane):** đây là một trong những dạng hiếm thấy ở noãn do màng tế bào chất có chất lượng và độ đàn hồi không đồng đều.

**Màng bào tương dai (tough oocyte membrane):** đây cũng là một dạng hiếm gặp do bất thường cấu trúc màng bào tương gây ra hiện tượng thải loại tinh trùng sau ICSI.

#### Đánh giá chất lượng màng trong suốt (ZP – zona pellucida)

Một số hình dạng bất thường hay gặp ở ZP là dạng màng hình bầu dục (ovoid ZP), dạng màng kép (bi-layer ZP), ZP có kích thước quá dày hay quá mỏng... Độ dày của ZP được ghi nhận là bình thường ở 13-15 $\mu$ m, nếu nhỏ hơn giá trị này ZP được xem là mỏng, trường hợp còn lại được xem là ZP dày (Shen và cs., 2005; Hagemann và cs., 2010) (Hình 4.7).



**Hình 4.3.** Tiêu chuẩn phân loại hình thái độ mịn (granularity) trong bào tương noãn (200X) (Nguồn: IVFAS)

**Gran 1:** Bào tương mịn và sáng màu (A); **Gran 2:** Có hạt hơi thô và sáng màu (B); **Gran 3:** Quặng hạt thô (cytoplasmic granularity - CG hay Central located granularity - CLG), sậm màu (C); **Gran 4:** Quặng hạt thô chiếm từ 3/4 diện tích bề mặt trở lên, tập trung ở vùng trung tâm noãn và các dạng bất thường khác (D)

**Hình 4.4.** Tiêu chuẩn phân loại sự xuất hiện thể vùi (incls-inclusions) ở noãn (200X) (Nguồn: IVFAS)

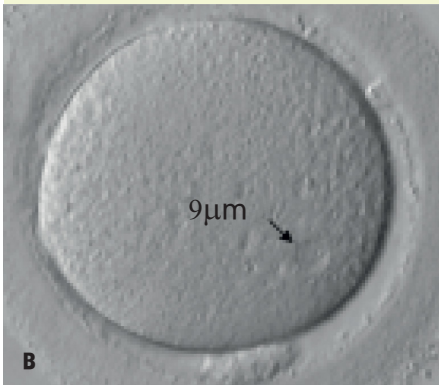
**Incls 1:** Không hiện diện thể vùi trong bào tương (A); **Incls 2:** Bào tương có một thể vùi nhỏ ( $\leq 2-3\mu\text{m}$ ) (B); **Incls 3:** Bào tương có một thể vùi to hoặc nhiều thể vùi nhỏ ( $> 5\mu\text{m}$ ) (C); **Incls 4:** Bào tương có từ hai thể vùi to trở lên và các dạng phức tạp (mắt bò, bull-eyed) (D)

**Hình 4.5.** Tiêu chuẩn phân loại sự xuất hiện lưới nội chất trơn (SER) ở noãn (200X) (Nguồn: IVFAS, 2011 và Thomas Ebner, ESHER Campus Tour, 2008)

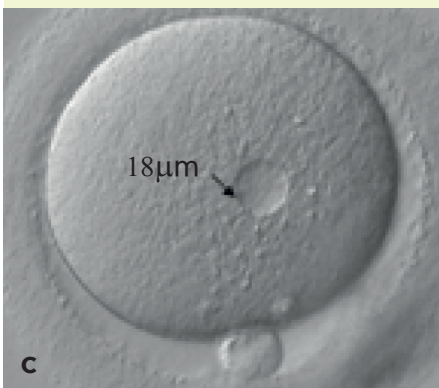
**SER 1:** Không hiện diện hình ảnh SER (A); **SER 2:** Có một SER nhỏ (B); **SER 3:** Có nhiều hơn một SER nhỏ hoặc một SER trung bình (C); **SER 4:** Có một SER to hoặc nhiều SER trung bình (D)



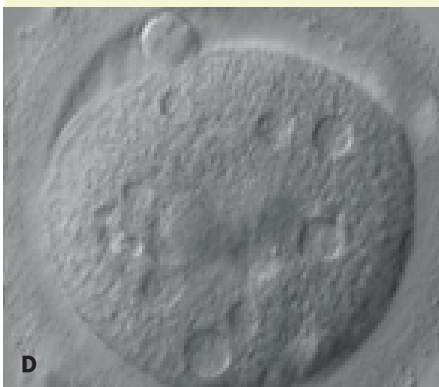
A



B



C



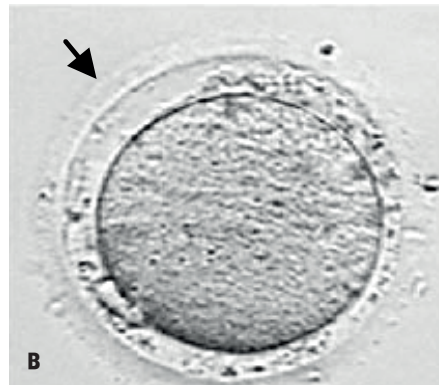
D

**Hình 4.6.** Tiêu chuẩn phân loại sự xuất hiện không bào ở noãn (200X)  
(Nguồn: IVFAS và Thomas Ebner, ESHER Campus Tours, 2008)

**VAC 1:** Không có không bào trong bào tương noãn (A); **VAC 2:** Có một không bào nhỏ (5-10µm) (B); **VAC 3:** Có một không bào trung bình (10-14µm) (C); **VAC 4:** Có một không bào lớn (>14µm) hoặc có nhiều không bào nhỏ, trung bình (D)



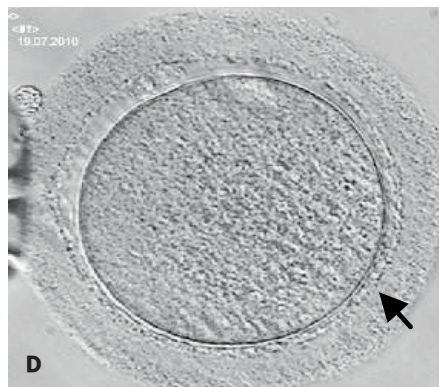
A



B



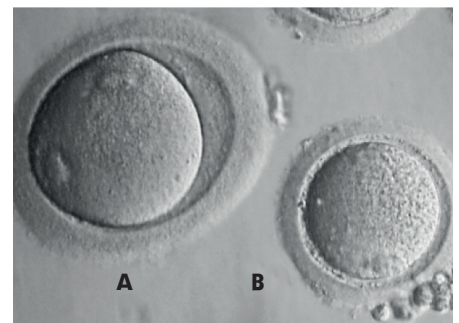
C



D

**Hình 4.7.** Tiêu chuẩn phân loại hình thái ZP của noãn (200X) (Nguồn: IVFAS)

**ZP 1:** Độ dày và màu sắc bình thường (13-15µm) (A); **ZP 2:** Màng trong suốt mỏng (B); **ZP 3:** Dày, hai lớp hoặc dày mỏng không đều (C); **ZP 4:** Dày và sậm màu hoặc bất thường (D)

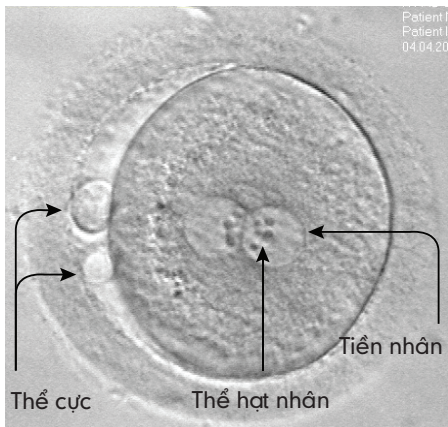


A

B

**Hình 4.8.** Noãn khổng lồ (A) và noãn có kích thước bình thường (B)  
(Nguồn: IVFAS)

# ĐÁNH GIÁ VÀ PHÂN LOẠI HỢP TỬ, PHÔI PHÂN CHIA NGÀY 2-3



**Hình 5.** Noãn thụ tinh (Nguồn: IVFAS)

## ĐÁNH GIÁ HỢP TỬ

### Vị trí và kích thước của 2 tiền nhân

Mặc dù có những biến thiên nhất định về thời điểm phát triển của các quá trình sinh học nhưng thời điểm chuẩn sẽ được tính là thời điểm mà những sự kiện xảy ra ở phần lớn bệnh nhân/ trường hợp. Do đó, thời điểm tiến hành kiểm tra thụ tinh được thống nhất ở tất cả labo vào khoảng  $17 \pm 1$  giờ sau khi thực hiện ICSI hoặc IVF cổ điển. Noãn thụ tinh thường có hình cầu, với 2 thể cực và 2 tiền nhân (pronuclei – PN) có màng bao riêng biệt, kích thước bằng nhau, nằm sát nhau ở vùng trung tâm của noãn. Mỗi PN có số lượng và kích thước của các thể hạt nhân (NPB – nucleolar precursor body) tương đương nhau, sắp xếp thẳng hàng tại vùng giao nhau của màng 2 PN (Hình 5).

Noãn thụ tinh nên được đánh giá cẩn thận từ hình ảnh của 2 PN đến số lượng và cách sắp xếp của các NPB. Những thông tin này rất có giá trị khi được kết hợp vào tiêu chuẩn chọn lựa phôi để chuyển.



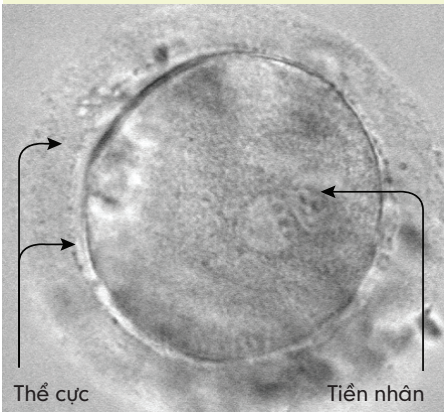
**Hình 6.** Noãn thụ tinh có 2 PN nằm xa nhau (Nguồn: IVFAS)

Về vị trí của 2 PN, chúng phải xuất hiện đồng thời và sát nhau. Sự thất bại trong quá trình di chuyển khiến 2 PN không nằm sát nhau ở 16-18 giờ sau thụ tinh (Hình 6) có thể do một số đứt gãy ở thể hình sao (aster) và sự hình thành vi ống (microtubule). Những dạng hợp tử này thường hiếm khi phát triển thành phôi nang (Scott, 2009).

Về kích thước, các PN thường có kích thước gần bằng nhau. 87% noãn thụ tinh có các PN kích thước quá khác biệt nhau mang bất thường nhiễm sắc thể (NST) (Scott, 2003). Ngoài ra, noãn thụ tinh có PN kích thước quá nhỏ hoặc bị phân mảnh (Hình 7) thường mang một số bất thường về NST hoặc phát triển chậm (Alpha, 2011).



**Hình 7.** Noãn thụ tinh có 4 PN (trong đó 1 PN có kích thước bình thường, 3 PN có kích thước nhỏ hơn do PN còn lại bị phân mảnh) (Nguồn: IVFAS)



**Hình 8.** Noãn thụ tinh với 2 PN nằm lệch một bên vùng ngoại biên ở phần bán cầu không chứa 2 thể cực (Nguồn: IVFAS)



**Hình 10.1.** Noãn thụ tinh Z1

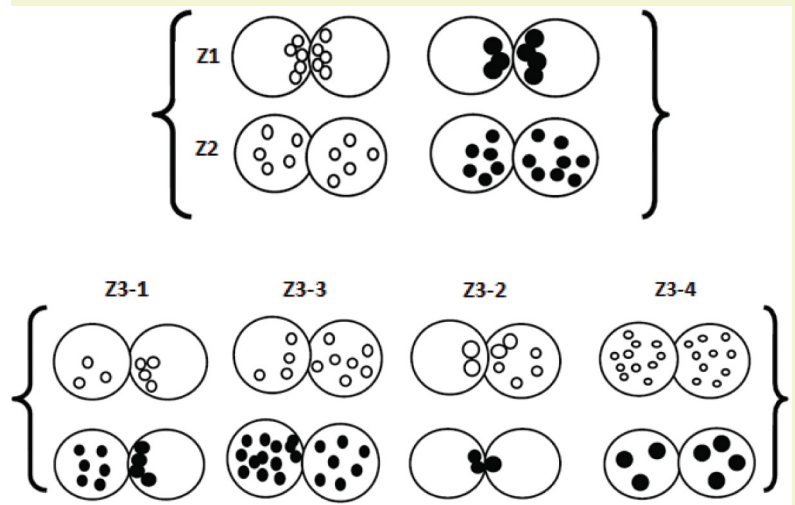


**Hình 10.2.** Noãn thụ tinh Z2

Vị trí của các PN trong noãn thụ tinh cũng là một đặc điểm quan trọng. Trong quá trình thụ tinh, PN từ tinh trùng có xu hướng di chuyển vào vị trí trung tâm của noãn, trong khi đó các vi ống từ các thể hình sao có nhiệm vụ kéo PN từ noãn về phía PN từ tinh trùng. Do đó, vào thời điểm kiểm tra thụ tinh, 2 PN thường nằm ở vùng trung tâm của noãn hoặc hơi lệch một bên vùng ngoại biên có thể cực thứ nhất. Nếu 2 PN nằm ở vùng ngoại biên của noãn ở phần bán cầu không chứa thể cực thì được đánh giá là bất thường (Scott, 2009) (Hình 8).

### Thể hạt nhân (NPB)

Các NPB bên trong mỗi PN được quan sát thấy dưới kính hiển vi đảo ngược có hệ thống gương phản pha (Hoffman hoặc Nomarski). Có nhiều hệ thống đánh giá noãn thụ tinh được xây dựng nhưng hệ thống Z-score của Scott và Smith phát triển năm 1998 được sử dụng phổ biến nhất. Kích thước, số lượng và sự phân bố của các NPB được xem là một trong những tiêu chuẩn quan trọng trong đánh giá noãn thụ tinh. Dựa vào những tiêu chuẩn này mà hệ thống đánh giá được chia thành 4 cấp độ là Z1, Z2, Z3, Z4 (Hình 9).



**Hình 9.** Sơ đồ phân loại PN theo hệ thống Z-score (Nguồn: Textbook of ART, 2009)

Trong đó:

**Z1:** Những hợp tử có 2 PN có kích thước và số lượng các NPB tương đương nhau (3-7 NPB), các NPB xếp thẳng hàng ở vùng tiếp giáp giữa 2 PN (Hình 10.1).

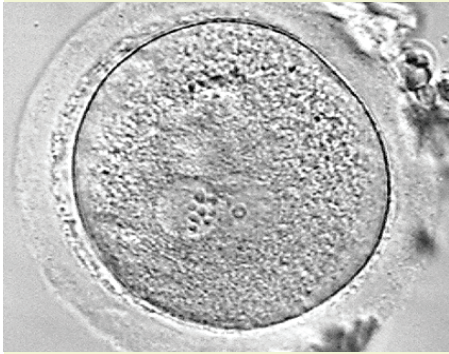
**Z2:** Những hợp tử có kích thước và số lượng các NPB tương đương nhau (3-7 NPB), nhưng các NPB không xếp thẳng hàng ở vùng tiếp giáp giữa 2 PN mà phân bố rải rác trong mỗi PN (Hình 10.2).

**Z3:** Những hợp tử không đồng đều nhau về kích thước, số lượng của các NPB ở mỗi PN hoặc các NPB ở mỗi PN không đồng thời xếp thẳng hàng ở vùng tiếp giáp giữa 2 PN (Hình 10.3, 10.4, 10.5 và 10.6).

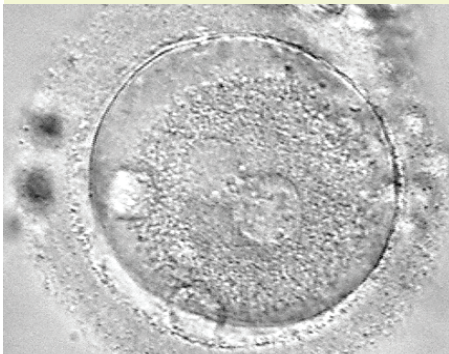
**Z4:** Những hợp tử bất thường, xuất hiện với 2 PN có kích thước khác biệt nhau rõ rệt (Hình 10.7), 2 PN không tiếp xúc nhau (Hình 10.8).



**Hình 10.3.** Noãn thụ tinh Z3-1



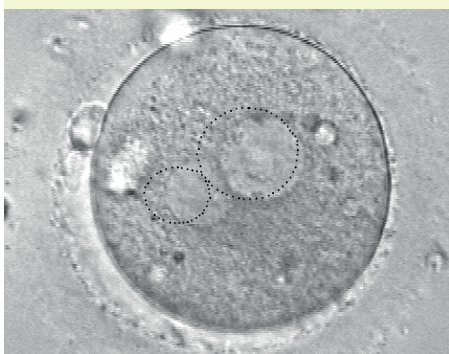
**Hình 10.4.** Noãn thụ tinh Z3-2



**Hình 10.5.** Noãn thụ tinh Z3-3



**Hình 10.6.** Noãn thụ tinh Z3-4



**Hình 10.7.** Noãn thụ tinh Z4

Noãn thụ tinh với 2PN có số lượng và kích thước của các NPB bằng nhau và xếp thẳng hàng được chứng minh là tạo ra một tỉ lệ phôi có NST bình thường cao (Gianaroli và cs., 2003; Scott và cs., 2007). Những noãn thụ tinh loại Z3-1, Z3-2 và Z3-3 và các dạng bất thường của hợp tử Z4 thường tạo thành phôi ngày 3 có chất lượng kém, tỉ lệ tạo phôi nang giảm và tỉ lệ làm tổ thấp (đối với trường hợp nuôi cấy và chuyển phôi ngày 5) (Senn và cs., 2006). Ngoài ra, một số dạng bất thường khác của PN được ghi nhận là PN không có NPB (được gọi là “ghost pronuclei”) (Hình 11), hoặc chỉ có 1 NPB (còn gọi là “bulls-eye pronuclei”) (Hình 12). Những dạng hợp tử này có khả năng làm tổ rất thấp khi được nghiên cứu trên mô hình động vật (Alpha, 2011). Bên cạnh đó, vị trí của hai thể cực ở hợp tử cũng có thể là một yếu tố giúp tiên lượng chất lượng phôi vào ngày 2 (Nguyễn Thị Thu Lan, 2008).

Bên cạnh việc đánh giá sự thụ tinh, người ta còn có thể kiểm tra phôi ở giai đoạn hợp nhân (syngamy) hay giai đoạn phôi có hiện tượng phân chia lần đầu tiên. Số liệu cho thấy khi nhóm bệnh nhân được chuyển phôi, trong đó có ít nhất 1 phôi có sự phân chia lần đầu tiên vào thời điểm kiểm tra ( $23 \pm 1$  giờ sau ICSI) có tỉ lệ thai lâm sàng cao hơn so với những bệnh nhân không có phôi nào phân chia lần đầu vào thời điểm này (48,8% so với 22,5%;  $p < 0,05$ ) (Nguyễn Ngọc Quỳnh và cs., 2012).

## ĐÁNH GIÁ PHÔI NGÀY 2-3

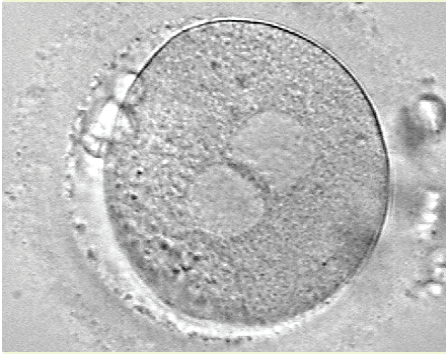
Đối với phôi, việc đánh giá và ghi nhận phải bao gồm 2 phần: số lượng phôi bào/giai đoạn phát triển và phân loại cho phôi. Với hệ thống đánh giá này, ba thông số cơ bản được quan tâm là số lượng phôi bào, độ đồng đều về kích thước giữa các phôi bào và tỉ lệ phân mảnh bào tương so với thể tích phôi.

### Đánh giá số lượng phôi bào

Việc đánh giá tốc độ phát triển của phôi, cụ thể là số lượng phôi bào nên được thực hiện đúng thời điểm (Bảng 1). Phôi phát triển ngày 2 thường có 4 tế bào (Hình 13), phôi ngày 3 thường có 8 tế bào (Hình 14). Những phôi có tốc độ phân chia chậm hơn tốc độ mong đợi thường có khả năng làm tổ thấp. Ngoài ra, những phôi có tốc độ phân chia nhanh hơn mong đợi có thể có bất thường về di truyền và cũng có khả năng làm tổ thấp (Alpha, 2011).



**Hình 10.8.** Noãn thụ tinh Z4



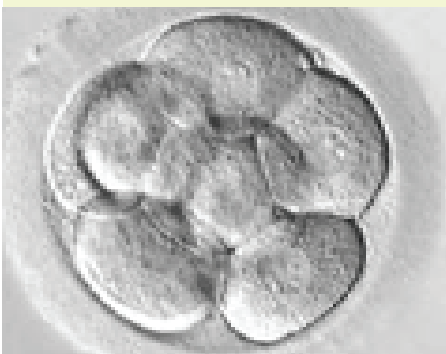
**Hình 11.** Ghost pronuclei



**Hình 12.** Bulls-eye pronuclei



**Hình 13.** Phôi ngày 2 (4 tế bào)



**Hình 14.** Phôi ngày 3 (8 tế bào)

**Bảng 1.** Thời điểm đánh giá phôi và các giai đoạn phát triển tương ứng

Đánh giá phôi ngày 2	44±1	4 tế bào
Đánh giá phôi ngày 3	68±1	8 tế bào
Đánh giá phôi ngày 4	92±1	Phôi dâu (morula)
Đánh giá phôi ngày 5	116±2	Phôi nang (blastocyst)

### Đánh giá độ đồng đều về kích thước giữa các phôi bào

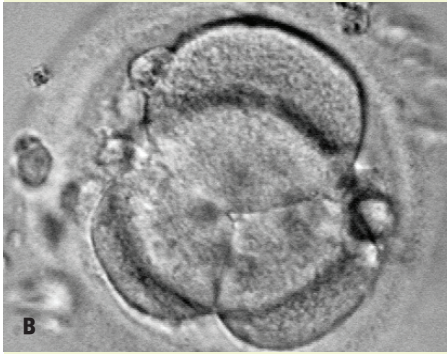
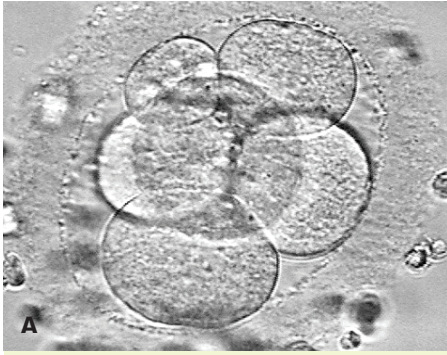
Thông thường những phôi có 2, 4 và 8 tế bào (số phôi bào chẵn) nên chứa những phôi bào có kích thước bằng nhau hoặc tương đối bằng nhau. Kích thước các phôi bào chỉ khác nhau khi phôi chưa hoàn tất pha phân chia (số phôi bào lẻ). Phôi được đánh giá là có các phôi bào có kích thước không đồng đều khi đường kính giữa phôi bào lớn nhất và phôi bào nhỏ nhất khác biệt nhau từ 20% trở lên (Hardarson và cs., 2001). Những phôi này thường có tỉ lệ lệch bội (aneuploidy) và tỉ lệ mang đa nhân cao hơn so với phôi có các phôi bào đồng đều nhau (Hardarson và cs., 2001). Vì cả hai lý do này mà phôi có phôi bào không đều về kích thước có khả năng phát triển và làm tổ kém hơn (Hình 15).

### Đánh giá độ phân mảnh bào tương

Phân mảnh bào tương là hiện tượng thường gặp ở phôi in-vitro. Chúng là những khối bào tương có màng bao, không nhân, nằm ngoài tế bào, có kích thước <45µm đối với phôi ngày 2 và <40µm đối với phôi ngày 3. Sự hình thành và vai trò của những phân mảnh này cho đến nay vẫn chưa rõ ràng. Tuy nhiên, chúng xuất hiện với mức độ khác nhau tùy theo những hệ thống nuôi cấy phôi hoặc các loại môi trường khác nhau (Van Blerkom và cs., 2001; Racowsky và cs., 2009).

Các mức độ của phân mảnh bào tương được phân chia thành 3 cấp độ: nhẹ (<10%), vừa phải (10-25%) và nặng (>25%) (Hình 16). Giá trị % được tính dựa trên thể tích của phôi bào, ví dụ ở phôi 4 tế bào, 25% mảnh vỡ bào tương sẽ tương đương với kích thước của 1 phôi bào.

Không có mối tương quan giữa sự xuất hiện của các phân mảnh bào tương và tuổi của người phụ nữ, phác đồ kích thích buồng trứng hoặc chất lượng noãn, nhưng những phôi tốt, có khả năng phát triển tốt và có khả năng làm tổ cao được đánh giá là những phôi không có hoặc có rất ít phân mảnh. Kết quả từ nhiều nghiên cứu cho thấy khi sử dụng những phôi có tỉ lệ phân mảnh bào tương từ 40% để chuyển



**Hình 15.** Phôi ngày 2 có các phôi bào kích thước không đều (Nguồn: IVFAS)

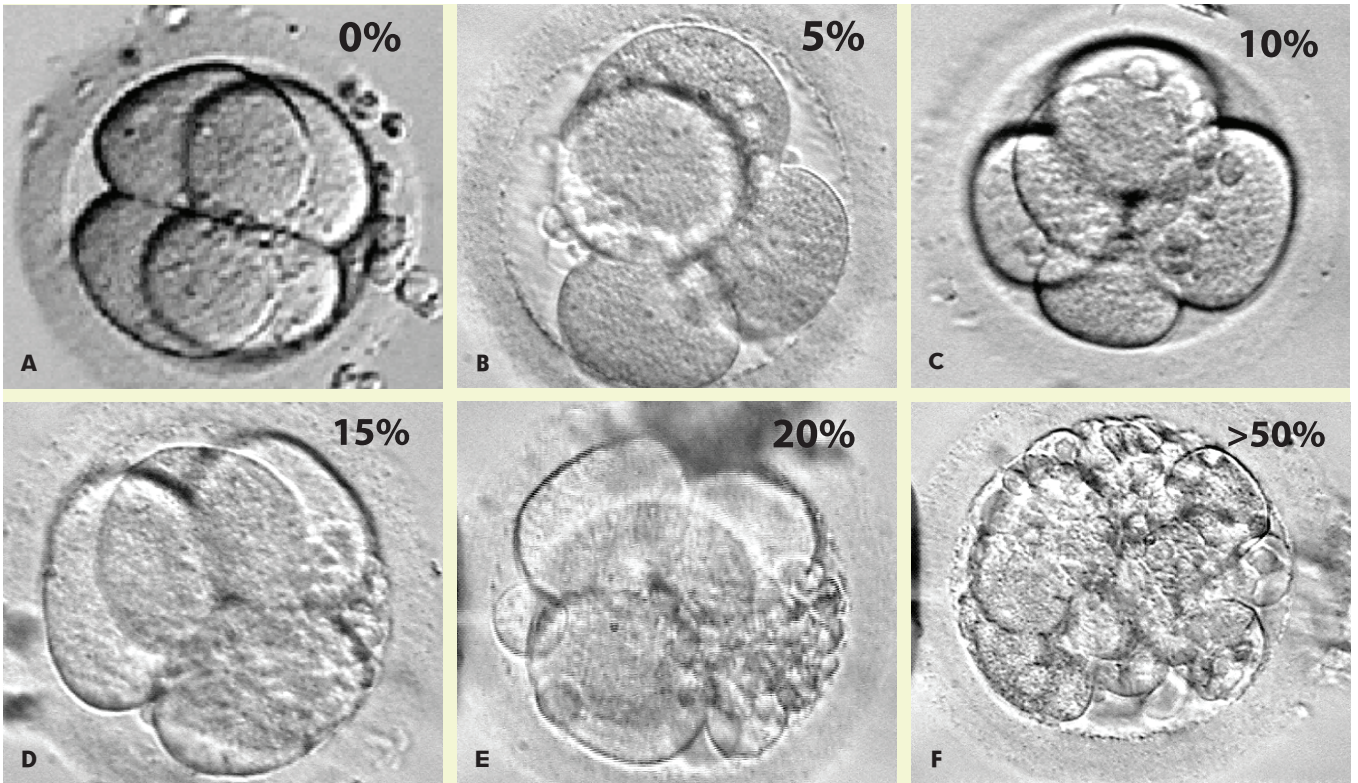
**A:** Phôi có 6 phôi bào với 2 phôi bào lớn, 3 phôi bào trung bình và 1 phôi bào nhỏ; **B:** Phôi có 4 phôi bào với 2 phôi bào lớn, 1 phôi bào trung bình và 1 phôi bào nhỏ; **C:** Phôi có 4 phôi bào với có 2 phôi bào lớn và 2 phôi bào nhỏ

và buồng tử cung thì tỉ lệ làm tổ chỉ là 5% (Alikani và cs., 1999; Holte và cs., 2006).

### Đánh giá phôi bào đa nhân (multinucleation)

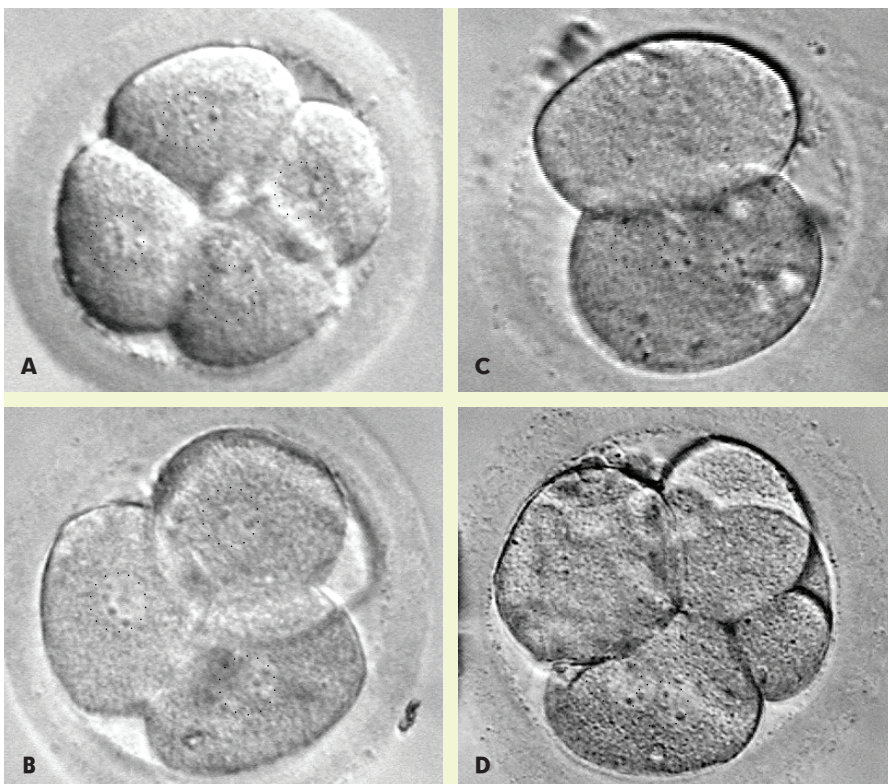
Đa nhân được ghi nhận khi trong phôi bào xuất hiện nhiều hơn 1 nhân (Hình 17 và 18). Việc đánh giá đa nhân nên được thực hiện vào ngày 2 ( $44 \pm 1$  giờ sau cấy thụ tinh) và khi 1 phôi bào có đa nhân thì phôi đó được xem là phôi đa nhân (Alpha, 2011). Những phôi đa nhân sẽ giảm khả năng làm tổ, thường có tỉ lệ bất thường về NST cao và kết quả là nguy cơ sẩy thai tự phát tăng nếu những phôi này được chọn để chuyển (Staessen và Van Steirteghem, 1998; Hardarson, 2001). Do đó, theo quan điểm hiện nay, đa nhân nên được xem là một tiêu chuẩn trong đánh giá và chọn lựa phôi (Alpha, 2011).





**Hình 16.** Phôi có tỉ lệ phân mảnh bào tương khác nhau (Nguồn: IVFAS)

Hình A và B: Phôi có tỉ lệ phân mảnh nhẹ (<10%)  
 Hình C, D và E: Phôi có tỉ lệ phân mảnh vừa (10-25%)  
 Hình F: Phôi có tỉ lệ phân mảnh nặng (>25%)



**Hình 17.** Phôi có phôi bào đơn nhân (Nguồn: IVFAS)

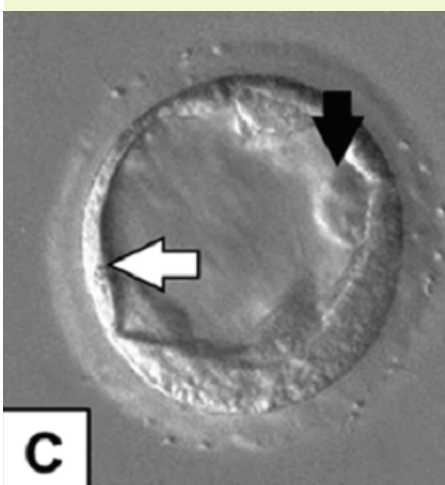
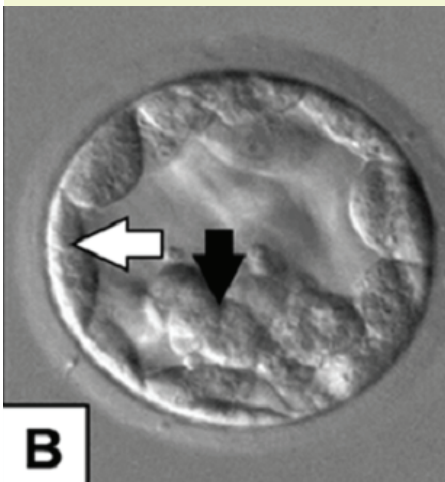
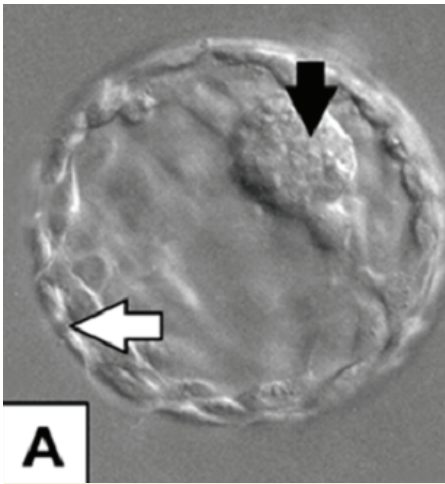
**Hình 18.** Phôi có phôi bào đa nhân (Nguồn: IVFAS)

# ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG PHÔI NANG (Blastocyst)

Chuyển phôi ngày 5 có nhiều ưu điểm hơn so với chuyển phôi giai đoạn phân chia, nhất là trong việc hạn chế tình trạng đa thai. Kết quả của một nghiên cứu phân tích gộp trên thư viện điện tử Cochrane gần đây nhất khi so sánh chuyển phôi nang và chuyển phôi giai đoạn phân chia cho thấy tỉ lệ sinh sống và tỉ lệ thai lâm sàng ở nhóm chuyển phôi nang cao hơn. Nguy cơ đa thai thấp hơn ở nhóm chuyển phôi ngày 5 (OR = 0,44). Một điểm quan trọng là tỉ lệ không có phôi chuyển ở những bệnh nhân có tiên lượng tốt trong hai nhóm là tương đương (Blake và cs., 2011). Bên cạnh mục đích hạn chế tỉ lệ đa thai (Lê Thị Phương Lan, 2007), việc chuyển phôi ngày 5 còn có thể được áp dụng cho những trường hợp thất bại làm tổ (Đặng Quang Vinh và cs., 2012).

Kết quả cho thấy khi chuyển 2 phôi nang có chất lượng tốt thì tỉ lệ thai có thể lên đến 63% (Nguyễn Thị Minh và cs., 2012), do đó, việc đánh giá chất lượng phôi nang để chọn lựa phôi phù hợp để chuyển rất quan trọng. Chất lượng của phôi nang có thể được đánh giá dựa trên các tiêu chuẩn sau: (1) sự tạo nang và độ nở rộng của phôi, (2) tính chất của nụ phôi hay khối tế bào nội phôi (ICM - inner cell mas) và (3) lớp tế bào màng nuôi (TE - trophectoderm).

Hệ thống đánh giá phôi nang đang được áp dụng phổ biến dựa theo hệ thống đánh giá của Gardner và hệ thống đánh giá của Cornell. Năm 2011, Hiệp hội Alpha đã thống nhất hệ thống đánh giá phôi nang dựa trên hệ thống của Gardner và có một số thay đổi nhằm hệ thống hóa dữ liệu dưới dạng số nhằm thuận tiện hơn cho việc xử lý thống kê số liệu, nhưng nhìn chung vẫn được phân làm 3 nhóm là tốt, trung bình và xấu (Bảng 2).



**Hình 19.** Đánh giá ICM (mũi tên đen) và TE (mũi tên trắng)  
(Nguồn: Gardner & Schoolcraft, 1999)

**Bảng 2.** Tóm tắt hệ thống đánh giá phôi ngày 5 theo tiêu chuẩn đồng thuận của Alpha 2011

	Độ đánh giá	Xếp loại	Hình thái phôi
Tốc độ phát triển	1		Phôi nang sớm (early blastocyst)
	2		Phôi nang (blastocyst)
	3		Phôi đã nở rộng (expanded)
	4		Phôi đang/ đã thoát màng (hatching/ hatched)
ICM	1	Tốt	Nổi lên trên, dễ dàng phân biệt, chứa nhiều tế bào nén chặt và liên kết với nhau
	2	Trung bình	Dễ dàng phân biệt, chứa nhiều tế bào tạo thành từng nhóm tế bào liên kết lỏng lẻo
	3	Xấu	Khó phân biệt, chứa ít tế bào
TE	1	Tốt	Rất nhiều tế bào, hình thành lớp biểu mô bên ngoài
	2	Trung bình	Ít tế bào, hình thành nên lớp biểu mô lỏng lẻo
	3	Xấu	Rất ít tế bào

Trong đó:

**Độ 1:** (phôi nang sớm): thể tích khoang phôi <1/2 thể tích của phôi (chưa lấp đầy)

**Độ 2:** (phôi nang): khoang phôi hoàn toàn lấp đầy thể tích của phôi

**Độ 3:** (phôi đã nở rộng): khoang phôi nở rộng với ZP mỏng dần

**Độ 4:** Phôi đang hay đã thoát màng

Việc đánh giá khối tế bào ICM và TE chỉ được thực hiện khi phôi đã phát triển đến giai đoạn 3 (nở rộng).

## ĐÁNH GIÁ ICM

ICM và TE chỉ được đánh giá khi phôi nang đã phát triển đến giai đoạn nở rộng (độ 3).

### ICM

Tốt: nhiều tế bào, liên kết chặt chẽ (A)

Trung bình: một số tế bào, liên kết lỏng lẻo (B)

Xấu: rất ít tế bào (C)

### TE

Tốt: Nhiều tế bào tạo thành một lớp gắn kết (A)

Trung bình: Ít các tế bào tạo thành một lớp biểu mô lỏng lẻo (B)

Xấu: Rất ít tế bào lớn (C)

# TÓM TẮT

## THỜI ĐIỂM KIỂM TRA

**T**hời điểm kiểm tra, đánh giá cần được tuân thủ nghiêm ngặt. Thời điểm này được xác định dựa vào thời điểm noãn bắt đầu tiếp xúc với tinh trùng (cấy noãn với tinh trùng trong IVF cổ điển hay ICSI) (Bảng 3).

**Bảng 3.** Thời điểm đánh giá noãn và phôi

Hoạt động	Thời điểm (khi noãn tiếp xúc tinh trùng)	Giai đoạn phát triển
Kiểm tra thụ tinh	17±1	2 PN
Kiểm tra sự phân bào đầu tiên	26±1 (sau ICSI) 28±1 (sau IVF cổ điển)	2 tế bào
Đánh giá phôi ngày 2	44±1	4 tế bào
Đánh giá phôi ngày 3	68±1	8 tế bào
Đánh giá phôi ngày 4	92±1	Phôi dâu (morula)
Đánh giá phôi ngày 5	116±2	Phôi nang

## ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG NOÃN

Các tiêu chí có thể được sử dụng trong đánh giá noãn bao gồm màng trong suốt, khoang quanh noãn, thể cực thứ nhất, độ mịn của bào tương và sự hiện diện của không bào hay lưới nội chất trơn. Một noãn lý tưởng có hình cầu, được bao bọc bởi màng trong suốt đồng đều, bào tương mịn, sáng màu, không có thể vùi và có thể cực thứ nhất với kích thước phù hợp. Điểm cần lưu ý là các noãn có kích thước thể cực hay kích thước noãn lớn bất thường (giant oocyte) hay có sự hiện diện của lưới nội chất trơn (SER) không nên được sử dụng để thụ tinh và tạo phôi.

## Đánh giá màng trong suốt

Các dữ liệu hiện tại chưa cho thấy có mối liên hệ nào giữa độ dày ZP và các kết quả điều trị. Tuy nhiên, nên ghi nhận những noãn có bất thường về màu sắc hay độ dày của ZP.

## Đánh giá khoang quanh noãn

Sự hiện diện của các thể vùi trong PVS là không bình thường. Tuy nhiên, các dữ liệu hiện tại chưa cho thấy giá trị tiên lượng của bất thường này trên các kết quả điều trị. Do đó, chỉ cần ghi nhận là có hay không có thể vùi. Bên cạnh đó, các ý kiến đồng thuận cho rằng chỉ cần ghi nhận kích thước PVS khi lớn bất thường.

## Đánh giá thể cực thứ nhất

Kích thước của thể cực thứ nhất chỉ cần được ghi nhận khi lớn bất thường. Những noãn này không nên được sử dụng để thụ tinh vì nguy cơ lệch bội nhiễm sắc thể.

## Đánh giá bào tương

Độ mịn của bào tương noãn (chỉ được đánh giá rõ trên kính hiển vi phản pha) nên được phân biệt rõ với hiện tượng kết đám của các bào quan (organelle cluster), thường có thể phát hiện được với bất kỳ loại kính hiển vi nào. Đồng thuận cho rằng những noãn có hiện tượng này thường có khả năng làm tổ thấp. Ngoài ra, các ý kiến trong đồng thuận cũng khuyến cáo rằng không nên sử dụng những noãn có xuất hiện hình ảnh của lưới nội chất trơn.

## Không bào

Dữ liệu hiện tại cho thấy chỉ những không bào có kích thước lớn (>14 micromet) mới có liên quan đến thất bại thụ tinh hay ảnh hưởng đến khả năng hình thành phôi nang.

## ĐÁNH GIÁ PHÔI GIAI ĐOẠN HAI TIỀN NHÂN (2 PN)

Các yếu tố cần được đánh giá bao gồm: số lượng, kích thước và vị trí của 2 PN; số lượng, kích thước và vị trí của các thể hạt nhân (NBP). Chất lượng có thể phân thành Z1-Z4 (Bảng 4), với Z1 là có chất lượng tốt nhất. Các phôi phát triển từ hợp tử Z1-Z2 nên được ưu tiên chọn lựa để chuyển.

Kiểm tra giai đoạn phân chia sớm đầu tiên được nhiều ý kiến đồng thuận cho thấy có thể giúp chọn lựa phôi có khả năng làm tổ cao. Tuy nhiên, việc triển khai tùy thuộc vào điều kiện cụ thể của từng trung tâm. Điểm cần lưu ý là có thể cân nhắc giảm số phôi chuyển khi sử dụng những phôi từ những noãn có hiện tượng phân bào đầu tiên nhằm hạn chế nguy cơ đa thai.

**Bảng 4.** Đánh giá noãn thụ tinh

Phân loại	Kích thước và vị trí 2PN	Số lượng và kích thước NPB	Cách sắp xếp của NPB
Z1	Bằng nhau Sát nhau ở trung tâm	3-7 Tương đương	Xếp thành hàng thẳng ở vùng tiếp giáp giữa 2 PN
Z2	Bằng nhau Sát nhau ở trung tâm	3-7 Tương đương	Phân tán trong PN
Z3	1	Bằng nhau Sát nhau ở trung tâm	Xếp thành hàng thẳng ở vùng tiếp giáp giữa 2 PN (Z3-1)
	2	Bằng nhau Sát nhau ở trung tâm	1 PN có <3 NPB; 1 PN có 3-7 NPB Xếp thành hàng thẳng ở vùng tiếp giáp giữa 2 PN (Z3-2)
	3	Bằng nhau Sát nhau ở trung tâm	3-7 1 PN có NPB xếp thành hàng thẳng, 1 PN có NPB phân tán (Z3-3)
	4	Bằng nhau Sát nhau ở trung tâm	3-7 Kích thước các NPB rất nhỏ Xếp thành hàng hoặc phân tán (Z3-4)
Z4	Không bằng nhau Hoặc không sát nhau	3-7	Xếp thành hàng hoặc phân tán

### ĐÁNH GIÁ PHÔI GIAI ĐOẠN PHÂN CHIA (NGÀY 2-3)

Chất lượng phôi giai đoạn phân chia có thể được chia thành 3 cấp độ tốt, trung bình và xấu, dựa vào các tiêu chí như số lượng và kích thước của các phôi bào, tỉ lệ phân mảnh bào tương và tình trạng đa nhân của phôi bào (Bảng 5).

Các phôi có tốc độ phân chia chậm hơn bình thường có thể có khả năng làm tổ thấp. Ngoài ra, những phôi có tốc độ phân chia nhanh có thể có bất thường về nhiễm sắc thể kèm theo, do đó, khả năng làm tổ cũng bị ảnh hưởng.

Trong đa số trường hợp, ưu tiên sử dụng các phôi có chất lượng tốt để chuyển và trữ lạnh. Các phôi có chất lượng trung bình sẽ được xem xét tùy trường hợp cụ thể. Việc sử dụng các phôi có chất lượng xấu để chuyển hay trữ lạnh cần được hạn chế.



**Hình 20.1.** Phôi N4 tốt



**Hình 20.2.** Phôi N4 trung bình



**Hình 20.3.** Phôi N4 xấu  
(Nguồn: Atlas of Blastocyst)

**Bảng 5.** Tỷ lệ phân mảnh bào tương và tình trạng đa nhân của phôi bào

Phân loại	Số lượng phôi bào	Độ đồng đều về kích thước phôi bào	Tỷ lệ mảnh vỡ bào tương
Tốt	4 phôi bào (phôi ngày 2) 8 phôi bào (phôi ngày 3)	Đều hoặc tương đối đều (lệch nhau $\leq 20\%$ ) Đơn nhân	0-10%
Trung bình	<4 phôi bào hoặc >4 phôi bào (ngày 2) <8 phôi bào hoặc >8 phôi bào hoặc nén (compacting) (ngày 3)	Tương đối đồng đều Đơn nhân	0-10%
	4 phôi bào (ngày 2) 8 phôi bào (ngày 3)	Không đều (lệch nhau $>20\%$ ) Đơn nhân	0-10%
Xấu	4 phôi bào (ngày 2) <8 tế bào (ngày 3)	Tương đối đều Đơn nhân	15-20%
	4 phôi bào (ngày 2) 8 phôi bào (ngày 3)	Tương đối đều Đơn nhân	>20%
		Đa nhân	

## ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG PHÔI NGÀY 4

Tương tự phôi giai đoạn phân chia, phôi ngày 4 cũng được chia làm 3 nhóm là tốt, trung bình và xấu. Sự phân độ này phụ thuộc chủ yếu vào tốc độ phân bào và tiến độ của quá trình nén (compaction).

**Bảng 6.** Đánh giá phôi ngày 4

Phân loại	Đặc điểm
Tốt	Đã bước vào lần phân bào thứ 4 (khoảng 16 phôi bào) Hiện tượng nén đã diễn ra ở toàn bộ thể tích phôi
Trung bình	Đã bước vào lần phân bào thứ 4 (khoảng 16 phôi bào) Hiện tượng nén đã diễn ra ở phần lớn của phôi
Xấu	Hiện tượng nén xảy ra ít hơn 1/2 thể tích phôi, với sự hiện diện của 2-3 phôi bào còn rõ màng tế bào Hoặc hiện tượng nén xảy ra ở phôi trước khi phôi đạt đến 8 phôi bào

## ĐÁNH GIÁ PHÔI NGÀY 5

Phôi ngày 5 được đánh giá chất lượng dựa vào sự tạo nang và độ nở rộng của phôi; hình ảnh khối tế bào nội phôi (ICM) và lớp tế bào màng nuôi (TE). Một phôi ngày 5 vào thời điểm  $116 \pm 2$  giờ sau cấy được xem là có chất lượng tốt khi có độ nở rộng tối đa hay đã phát triển đến giai đoạn thoát màng; có khối ICM nổi bật, thấy rõ giới

hạn, bên trong có chứa nhiều tế bào và các tế bào phải liên kết chặt với nhau. Ngoài ra, các tế bào màng nuôi phải có nhiều, ép dẹt vào ZP và dính liền liên tục với nhau.

Các tiêu chuẩn đánh giá của khối tế bào ICM và TE chỉ được đánh giá chính xác khi phôi đã phát triển đến giai đoạn nở rộng.

**Bảng 7.** Đánh giá phôi ngày 5

Chỉ tiêu đánh giá	Phân loại	Đặc điểm
Tốc độ phát triển	1	Thoát màng (đã hoàn tất/đang thoát màng) Phôi nở rộng
	2	Phôi nang
	3	Phôi nang sớm
Khối tế bào nội phôi	A	Nổi bật, quan sát rõ, có nhiều tế bào kết khối và liên kết chặt
	B	Có thể quan sát rõ, nhiều tế bào nhưng không liên kết chặt
	C	Khó quan sát, có ít tế bào
Lớp tế bào lá nuôi	A	Nhiều tế bào, liên kết chặt với nhau thành một lớp liên tục
	B	Ít tế bào, liên kết rời rạc
	C	Rất ít tế bào

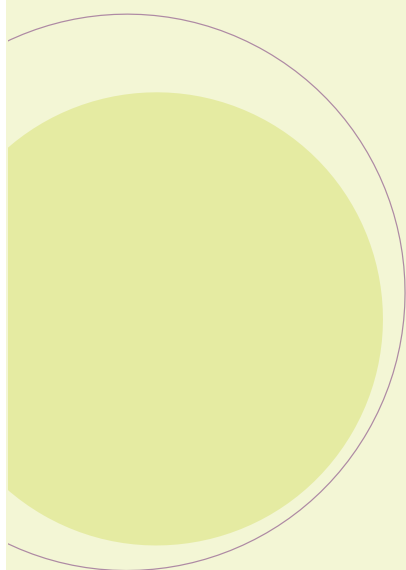
Dựa theo bảng đánh giá này, một phôi ngày 5 được đánh giá là tốt nhất khi có thang điểm là 1AA.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

01. Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi JG, Mack C and Scott RT, 1999. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril.* 71, 837-814
02. Alikani M, Palermo G, Adler A, et al., 1995. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote.* 3, 283-8
03. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum. Reprod.* 26, 1270-1283
04. Beuchat A, Thevenaz P, Unser M, Ebner T, Senn A, Urner F, Germond M and Sorzano COS. Quantitative morphometrical characterization of human pronuclear zygotes. *Hum. Reprod.* 23, 1983-1992
05. Blake D, Farquhar C, Johnson N, Proctor M, 2011. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 4. Art. No.: CD002118
06. Đặng Quang Vinh, 2012. Thất bại làm tổ: quan điểm từ labo. IVF Expert Meeting lần 8, Nha Trang, 07/2012
07. De Santis L, Cino I, Rabellotti E, 2005. Polar body morphology and spindle imaging as predictors of oocyte quality. *Reprod. Biomed. Online.* 11, 36-42
08. Ebner T, Moser M, Sheb I O, Sommergruber M, Yaman C, Tews G, 2008a. Blood clots in the cumulus-oocyte complex predict poor oocyte quality and post-fertilization development. *Reprod Biomed Online.* 16, 801-807
09. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al., 2005. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. *Fertil Steril.* 83, 1635-40
10. Ebner T, Moser M, Tews G, 2006. Is oocyte morphology prognostic of embryo developmental potential after ICSI? *Reprod Biomed Online.* 12, 507-12
11. Ebner T, Sheb I O, Moser M, Sommergruber M, Tews G, 2008b. Developmental fate of ovoid oocytes. *Hum Reprod.* 23, 62-66
12. Ebner T, Yaman C, Moser M et al., 2001. A prospective study on oocyte survival rate after ICSI: influence of injection technique and morphological features. *J Assist Reprod Genet.* 18, 623-8
13. Ebner T, Yaman C, Moser M et al., 2000. Prognostic value of first polar body morphology on fertilization rate and embryo quality in intra cytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 15, 427-30
14. Eichenlaub Ritter U, Schmiady H, Kantenich H, Soewarto D, 1995. Recurrent failure in polar body formation and premature chromosome condensation in oocytes from a human patient: indicators of asynchrony in nuclear and cytoplasmic maturation. *Hum Reprod.* 10, 2343-9
15. Fulka J., First, N.L. and Moore R.M, 1998. Nuclear and cytoplasmic determinants involved in the regulation of mammalian oocyte maturation. *Mol. Hum. Reprod.* 4, 41-49
16. Gianaroli L, Magli M, Ferraretti A, Fortini D and Grieco N, 2003. Pronuclear morphology and chromosomal abnormalities as scoring criteria for embryo selection. *Fertil Steril.* 80, 341-349
17. Hagemann AR, Lanzendorf SE, Jungheim ES, Chang AS, Ratts VS, Odem RR, 2010. A prospective, randomized, double-blinded study of assisted hatching in women younger than 38 years undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 93, 586-591
18. Hardarson T, Hanson C, Sjogren A and Lundin K, 2001. Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum Reprod.* 16, 313-318
19. Holte J, Berglund L, Milton K, Garello C, Gennarelli G, Revelli and Bergh T, 2006. Construction of an evidence-based integrated morphology cleavage embryo score for implantation potential of embryos scored and transferred on day 2 after oocyte retrieval. *Hum Reprod.* 22, 548- 557
20. Kahraman S, Yakin K, Donmez E et al., 2000. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 15, 2390-3

21. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K et al, 1999. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 72, 240-4
22. Mikkelsen AL, Lindenberg S, 2001. Morphology of in-vitro matured oocytes: impact on fertility potential and embryo quality. *Hum Reprod.* 16, 1714-18
23. Nguyễn Thị Minh, Ngô Thị Yến, Hoàng Thị Minh Phương, 2012. Đánh giá hiệu quả chuyển phôi ngày 5. IVF Expert Meeting lần 8, Nha Trang, 07/2012
24. Nguyễn Ngọc Quỳnh, Bùi Thị Thu Hiền, Trần Tú Cẩm, Phạm Dương Toàn, Đặng Quang Vinh, 2012. Hiệu quả đánh giá phôi ở giai đoạn phân bào đầu tiên. IVF Expert Meeting lần 8, Nha Trang, 07/2012
25. Nguyễn Thị Thu Lan và cs., 2009. Tương quan giữa hình thái trứng và tỷ lệ IVF. Hội thảo "Các vấn đề tranh luận trong hỗ trợ sinh sản", Đà Nẵng, 8/2009
26. Nguyễn Thị Thu Lan, 2009. Tương quan giữa vị trí hai thể cực ở hợp tử ngày 1 và chất lượng phôi ngày 2. IVF Expert Meeting lần 4, Phú Quốc, 2009
27. Otsuki J, Nagai Y, Chiba K, 2007. Lipofuscin bodies in human oocytes as an indicator of oocyte quality. *J Assist Reprod Genet.* 24, 263-270
28. Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H, 2004. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod.* 19, 1591-1597
29. Plachot M, Selva J, Wolf JP, Bastit P, de Mouzon J, 2002. Consequences of oocyte dysmorphism on the fertilization rate and embryo development after intracytoplasmic sperm injection. A prospective multicenter study. *Gynecol Obstet Fertil.* 30, 772-9
30. Racowsky C, Ohno-Machado L, Kim Jan Biggers JD, 2009. Is there an advantage in scoring early embryos on more than one day? *Hum Reprod.* 24, 2104-2115
31. Rama Raju GA, Prakash GJ, Krishna KM, Madan K, 2007. Meiotic spindle and zona pellucida characteristics as predictors of embryonic development: a preliminary study using PolScope imaging. *Reprod Biomed Online.* 14, 166-74
32. Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M et al., 2008. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril.* 90, 1692-700
33. Sakkas D and Gardner DK, 2009. Evaluation of embryo quality: new strategies to facilitate single embryo transfer, in Gardner D, Weissman A, Howles CM and Shoham Z (eds), *Textbook of Assisted reproductive technologies*, Informa healthcare, NewYork, pp 300-354
34. Scott L, 2009. Analysis of fertilization, in Gardner D, Weissman A, Howles CM and Shoham Z (eds), *Textbook of Assisted reproductive technologies*, Informa healthcare, NewYork, pp 207-217
35. Scott L, Finn A, OLeary T, McLellan S and Hill J, 2007. Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery: prospective and applied data for increased pregnancy rates. *Hum Reprod.* 22, 230-240
36. Senn A, Urner F, Chanson A, Primi MP, Wirthner D, Germond M, 2006. Morphological scoring of human pronuclear zygotes for prediction of pregnancy outcome. *Hum Reprod.* 21, 234-239
37. Shen Y, Stalf T, Mehnert C, Eichenlaub-Ritter U, Tinneberg HR, 2005. High magnitude of light retardation by the zona pellucida is associated with conception cycles. *Hum Reprod.* 20, 1596-606
38. Staessen C and Van Steirteghem A, 2001. The genetic constitution of multinuclear blastomeres and their derivative daughter blastomeres. *Hum Reprod.* 13, 1625-1631
39. Van Blerkom J, Davis P and Alexander S, 2001. A microscopic and biochemical study of fragmentation phenotypes in stage-appropriate human embryos. *Hum Reprod.* 16, 719-729
40. Veeck L.L, 1986. *Atlas of the Human Oocyte and Early Conceptus*. Williams and Wilkins, Baltimore, USA



# PHỤ LỤC

## ĐỊNH NGHĨA VỀ CÁC MỨC ĐỘ CHỨNG CỨ VÀ XẾP HẠNG CÁC KHUYẾN CÁO LÂM SÀNG (theo ESHRE)

### Các mức độ chứng cứ trong y học lâm sàng

Mức độ	Chứng cứ
1a	Tổng quan hệ thống và phân tích gộp từ các thử nghiệm ngẫu nhiên có nhóm chứng
1b	Ít nhất một thử nghiệm ngẫu nhiên có nhóm chứng (randomized control trial – RCT)
2a	Ít nhất một nghiên cứu có đối chứng, có thiết kế tốt, không ngẫu nhiên
2b	Ít nhất một nghiên cứu dạng thử nghiệm, có thiết kế tốt
3	Các nghiên cứu thiết kế tốt, nhưng không phải thực nghiệm, hoặc chỉ là nghiên cứu mô tả. Ví dụ như nghiên cứu so sánh, tìm mối tương quan, báo cáo loạt ca
4	Ý kiến của hội đồng hay những tổ chức uy tín về chuyên môn, dựa trên kinh nghiệm

### Xếp hạng các khuyến cáo lâm sàng

A	Có ít nhất một RCT ủng hộ (tương đương chứng cứ 1a, 1b)
B	Cần một số nghiên cứu lâm sàng có đối chứng thiết kế tốt ủng hộ, nhưng không phải RCT (tương đương chứng cứ 2a, 2b, 3)
C	Cần các chứng cứ từ báo cáo/ ý kiến của hội đồng chuyên gia Ý kiến/ kinh nghiệm lâm sàng của tổ chức chuyên môn uy tín (tương đương chứng cứ 4)
GPP	Khuyến cáo thực hành dựa trên kinh nghiệm lâm sàng của một nhóm chuyên gia



## **BAN BIÊN SOẠN**

### **Ban chỉ đạo**

PGS. TS. Nguyễn Việt Tiến

GS. BS. Nguyễn Thị Ngọc Phượng

### **Tổ biên soạn**

ThS. Lê Thị Phương Lan

ThS. Hồ Mạnh Tường

ThS. Đặng Quang Vinh

ThS. Nguyễn Thị Liên Hương

ThS. Nguyễn Thị Thu Lan

KS. Mai Công Minh Tâm

PGS. TS. Quán Hoàng Lâm

ThS. Trần Huy Dũng





origio