

Nghiên cứu

## Nghiên cứu khả năng nuôi cấy đến giai đoạn phôi nang ở phụ nữ dưới 35 tuổi có số noãn trưởng thành ít hơn 5

Nguyễn Văn Trung<sup>1\*</sup>, Lê Minh Tâm<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

<sup>2</sup>Khoa Phụ Sản, Trường Đại học Y - Dược Huế

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): Nguyễn Văn Trung, email: nvtrung@bv.huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 14/03/2026; Ngày duyệt đăng (Accepted): 05/06/2026; Ngày xuất bản (Published): 18/06/2026

DOI:10.34071/jmp.2026.S-1.6

### Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Chiến lược nuôi cấy phôi kéo dài đến giai đoạn phôi nang vẫn là một thách thức trong thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) ở nhóm bệnh nhân có số noãn trưởng thành MII (Metaphase II) thấp ngay cả ở bệnh nhân trẻ tuổi.

**Mục tiêu:** Đánh giá khả năng hình thành phôi nang ở phụ nữ dưới 35 tuổi có dưới 5 noãn MII trong chu kỳ IVF và phân tích các yếu tố liên quan đến sự hình thành phôi nang ở nhóm đối tượng này.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu mô tả trên 100 chu kỳ IVF ở bệnh nhân < 35 tuổi với số noãn MII < 5. Các chu kỳ được phân nhóm theo số noãn MII ( $\leq 2$  và 3 - 4 MII). Phân tích hồi quy logistic đa biến được sử dụng để xác định các yếu tố tiên lượng khả năng hình thành phôi nang.

**Kết quả:** Nhóm 3 - 4 MII có tỷ lệ đạt ít nhất một phôi nang cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm  $\leq 2$  MII (86,8% so với 65%;  $p = 0,014$ ). Tuy nhiên, không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa về tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi nang và phôi nang tốt giữa hai nhóm ( $p > 0,05$ ). Phân tích đa biến xác định tuổi người vợ (OR = 0,68;  $p = 0,017$ ) và số noãn MII (OR = 2,22;  $p = 0,013$ ) là các yếu tố tiên lượng độc lập, trong khi AMH, BMI và OSI không có ý nghĩa thống kê.

**Kết luận:** Số noãn trưởng thành chủ yếu ảnh hưởng đến khả năng đảm bảo có phôi nang trong chu kỳ, chất lượng phôi nang không phụ thuộc đáng kể vào số lượng noãn trưởng thành.

**Từ khóa:** *đáp ứng kém; phôi nang; phụ nữ trẻ.*

## Development to the blastocyst stage in women under 35 years with fewer than five mature oocytes

Nguyen Van Trung<sup>1\*</sup>, Le Minh Tam<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Center for Reproductive Endocrinology and Infertility (HUECREI),

Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue;

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue, Vietnam

### Abstract

**Background:** Extended embryo culture to the blastocyst stage remains a challenging strategy in in vitro fertilization (IVF), particularly in patients with a low number of mature oocytes (MII), even among young women.

**Objectives:** The study evaluated blastocyst formation in young women with fewer than 5 MII oocytes undergoing IVF. It also analyzed factors associated with blastocyst formation in this patient group.

**Materials and methods:** This retrospective study included 100 IVF cycles in patients aged < 35 years with < 5 MII oocytes. Cycles were stratified into two groups according to the number of MII oocytes ( $\leq 2$  and 3 - 4 MII). Multivariate logistic regression analysis was performed to identify predictors of blastocyst formation.

**Results:** The 3 - 4 MII group had a significantly higher rate of at least one blastocyst compared with the  $\leq 2$  MII group (86.8% vs. 65%;  $p = 0.014$ ). However, no significant differences were observed in fertilization rate, blastocyst formation rate, or good-quality blastocyst rate between the two groups ( $p > 0.05$ ). Multivariate analysis identified female age (OR = 0.68;  $p = 0.017$ ) and number of MII oocytes (OR = 2.22;  $p = 0.013$ ) as independent predictors of blastocyst formation, whereas AMH, BMI, and OSI were not statistically significant.

**Conclusion:** The number of mature oocytes primarily influences the likelihood of achieving at least one blastocyst per cycle, whereas blastocyst quality appears to be independent of the number of MII oocytes.

**Keywords:** *Poor ovarian response; Blastocyst formation; Young women.*

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) đã mang lại cơ hội làm cha mẹ cho hàng triệu cặp vợ chồng vô sinh kể từ khi em bé IVF đầu tiên ra đời năm 1978. Hiện nay, nhiều tiến bộ về kích thích buồng trứng, nuôi cấy phôi và kỹ thuật chuyển phôi đã góp phần cải thiện đáng kể kết quả điều trị IVF [1, 2]. Kéo dài thời gian nuôi cấy phôi đến giai đoạn phôi nang (blastocyst stage), có thể được thực hiện để phản ánh rõ hơn tiềm năng phát triển của phôi [3].

Nhiều nghiên cứu và phân tích tổng hợp đã chứng minh rằng chuyển phôi nang giúp cải thiện tỷ lệ làm tổ, tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ trẻ sinh sống so với chuyển phôi giai đoạn phân cắt [4, 5]. Chiến lược này cho phép giảm số lượng phôi chuyển mà vẫn đảm bảo hiệu quả điều trị, góp phần làm giảm đáng kể nguy cơ đa thai và các biến chứng sản khoa liên quan [6]. Việc chuyển phôi nang giúp tăng tính đồng bộ giữa phôi và nội mạc tử cung. Nuôi cấy kéo dài cho phép chọn lọc tự nhiên các phôi có tiềm năng phát triển tốt. Kéo dài nuôi cấy đến giai đoạn phôi nang tạo điều kiện thuận lợi cho các kỹ thuật chẩn đoán di truyền tiền làm tổ và các kỹ thuật tiên tiến khác mà ít ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi [7]. Một số nghiên cứu còn cho thấy các phôi có chất lượng hình thái kém ở giai đoạn phân cắt vẫn có thể phát triển thành phôi nang và mang lại thai kỳ thành công [8]. Phù hợp với các bằng chứng này, European Society of Human Reproduction and Embryology khuyến nghị ưu tiên chuyển phôi nang trong các trường hợp có đủ số lượng phôi nhằm tối ưu hóa kết quả điều trị [9], qua đó khẳng định vai trò ngày càng quan trọng của chiến lược nuôi cấy phôi nang trong thực hành IVF hiện đại [1, 10].

Trên thực tế, chỉ khoảng 40 - 60% phôi giai đoạn phân cắt được đánh giá chất lượng tốt có thể tiếp tục phát triển đến giai đoạn phôi nang [11]. Sự hoạt hóa bộ gen phôi xảy ra vào khoảng giai đoạn 4 - 8 tế bào, việc đánh giá hình thái trước thời điểm này chủ yếu phản ánh chất lượng noãn hơn là tiềm năng thực sự của phôi. Một số phôi có hình thái tốt vẫn có thể mang bất thường nhiễm sắc thể và ngừng phát triển ở giai đoạn sau [12]. Một số phôi có chất lượng hình thái kém ở giai đoạn phân cắt vẫn có khả năng tự điều chỉnh và tiếp tục phát triển thành phôi nang khi được nuôi cấy kéo dài. Khi đó, phôi đã loại bỏ các tế bào bất thường hoặc tái phân bố tế bào trong quá trình hình thành phôi nang [13]. Đánh giá sự phát triển đến giai đoạn phôi nang còn cho phép phân loại chi tiết hơn dựa trên chất lượng khối tế bào bên trong và tế bào nuôi phôi, cung cấp thêm thông tin quan trọng cho quyết định lâm sàng.

Chiến lược nuôi cấy phôi nang tiềm ẩn nguy cơ

không có phôi để chuyển. Hệ quả không chỉ làm tăng chi phí mà còn ảnh hưởng đáng kể đến tâm lý bệnh nhân [14]. Hiệu quả của nuôi cấy phôi nang phụ thuộc đồng thời vào điều kiện phòng thí nghiệm và đặc điểm sinh học của bệnh nhân. Trong đó, số lượng và chất lượng noãn MII đóng vai trò then chốt vì quyết định trực tiếp đến số hợp tử và tiềm năng phát triển phôi. Ở nhóm có số noãn ít, xác suất không hình thành được phôi nang tăng do giới hạn về số lượng. Sự khác biệt giữa các phòng lab về điều kiện nuôi cấy và quy trình kỹ thuật cũng góp phần làm biến thiên tỷ lệ tạo phôi nang. Do đó, việc lựa chọn chiến lược nuôi cấy cần được cá thể hóa, cân nhắc giữa lợi ích của chọn lọc phôi ở giai đoạn muộn và nguy cơ không có phôi để chuyển [15].

Các bằng chứng hiện có về hiệu quả của chiến lược nuôi cấy phôi nang ở nhóm bệnh nhân có số noãn ít vẫn còn chưa thống nhất. Một số nghiên cứu cho rằng ở các chu kỳ có số lượng hợp tử thấp, việc nuôi cấy kéo dài đến giai đoạn phôi nang làm tăng đáng kể nguy cơ không có phôi để chuyển [16]. Quan điểm chuyển phôi giai đoạn phân cắt được nhấn mạnh ở các trường hợp có  $\leq 3 - 5$  hợp tử. Ngược lại, các nghiên cứu gần đây cho thấy ngay cả ở những bệnh nhân có số noãn hoặc hợp tử ít, việc hình thành được phôi nang vẫn có thể mang lại kết quả điều trị vượt trội so với chuyển phôi sớm, bao gồm tỷ lệ thai lâm sàng và tỷ lệ trẻ sinh sống cao hơn [15, 17]. Một số dữ liệu còn cho thấy tỷ lệ phôi nang tốt nhất thiết thấp hơn ở nhóm có số noãn ít.

Các nghiên cứu tập trung riêng trên nhóm phụ nữ trẻ có số noãn MII thấp vẫn còn hạn chế. Số lượng noãn trưởng thành thấp có thực sự ảnh hưởng đến tiềm năng phát triển phôi nang ở phụ nữ trẻ hay không vẫn chưa được làm rõ hoàn toàn. Chiến lược nuôi cấy phôi kéo dài đến giai đoạn phôi nang được khuyến cáo rộng rãi ở nhóm bệnh nhân tiên lượng tốt, nhờ khả năng cải thiện hiệu quả lựa chọn phôi và kết cục điều trị so với chuyển phôi giai đoạn phân cắt. Tuy nhiên, đối với nhóm bệnh nhân có số noãn trưởng thành thấp nhưng có độ tuổi dưới 35, các bằng chứng hiện có còn hạn chế và chưa thống nhất. Xuất phát từ những vấn đề trên, nghiên cứu "*Nghiên cứu khả năng nuôi cấy đến giai đoạn phôi nang ở phụ nữ dưới 35 tuổi có số noãn trưởng thành ít hơn 5*" được thực hiện với hai mục tiêu:

- *Khả năng hình thành phôi nang ở các phụ nữ trẻ có số lượng noãn MII thấp dưới 5.*

- *Xác định các đặc điểm liên quan đến sự hình thành phôi nang ở đối tượng phụ nữ trẻ tuổi có số noãn MII thấp khi thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm.*

## 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tiến hành thu thập số liệu từ 01/2025 đến 12/2025. Các bệnh nhân dưới 35 tuổi được chỉ định thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm với kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI - Intracytoplasmic Sperm Injection) có số noãn MII dưới 5 và được nuôi cấy đến giai đoạn phôi nang ngày 5 được đưa vào nghiên cứu tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế, khi thỏa mãn các tiêu chuẩn chọn sau:

- Các chu kỳ kích thích buồng trứng với noãn tự thân và tinh trùng tự thân.
- Độ tuổi người vợ dưới 35 tuổi vào thời điểm chọc hút noãn
- Các chu kỳ có số lượng noãn MII vào ngày chọc hút noãn dưới 5.

- Các chu kỳ đều được thực hiện bằng kỹ thuật ICSI; tinh trùng sử dụng có thể là tinh trùng xuất tinh hoặc tinh trùng thu nhận phẫu thuật (TESA/TESE).

- Có ít nhất một hợp tử 2PN sau ICSI

- Chỉ thu nhận kết quả những phôi nang hình thành vào ngày 5. Các phôi nang hình thành vào ngày 6 không được đưa vào nghiên cứu này nhằm bảo đảm tính đồng nhất về động học phát triển phôi và tiêu chuẩn đánh giá chất lượng phôi

Tiêu chuẩn loại trừ như sau:

- Các bệnh nhân yêu cầu đông lạnh noãn.
- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu, yêu cầu chuyển phôi hoặc trữ đông phôi giai đoạn phân cắt.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu hồi cứu được tiến hành tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế.

Cỡ mẫu được tính dựa trên công thức ước tính một tỷ lệ trong quần thể:

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

- Z = 1,96 tương ứng với mức tin cậy 95%
- p là tỷ lệ dự kiến có phôi nang (ước tính khoảng 50% dựa trên các nghiên cứu trước)
- d = 0,1

Cỡ mẫu tối thiểu cần thiết là 96 chu kỳ. Trong nghiên cứu, tổng số 100 chu kỳ được đưa vào phân tích, do đó đủ để ước tính tỷ lệ tạo phôi nang với độ chính xác chấp nhận được.

Bệnh nhân được thực hiện quy trình thụ tinh trong ống nghiệm với quy trình sau:

#### Kích thích buồng trứng

Bệnh nhân được thực hiện kích thích buồng trứng

vào ngày 2 của chu kỳ kinh, người vợ được tiêm liều FSH tái tổ hợp (Gonal F, Merck, Đức) với liều lượng từ 150 - 250 IU cho lần đầu tiên. Trưởng thành noãn bằng cách sử dụng human chorionic gonadotropin (hCG) 10.000 IU (Pregnyl, Organon, Hà Lan) tiêm dưới da khi các nang trội đạt  $\geq 18$  mm trên siêu âm.

#### Chọc hút noãn

Noãn được thu hồi sau khi gây trưởng thành noãn 35 - 36 giờ, với kim chọc hút trứng nòng đơn (Kitazato, Nhật) vào tube Facon 14 mL. Phức hợp noãn thu nhận trong dịch nang sẽ tìm kiếm, rửa lại bằng 2 mL dung dịch G-MOPS PLUS (Vitrolife, Thụy Điển). Khối phức hợp noãn được cấy ủ 2 giờ trong môi trường G-IVF plus (Vitrolife, Thụy Điển) với điều kiện của tủ cấy được cài đặt ở 37°C, 6% CO<sub>2</sub>. Tách tế bào hạt ra khỏi phức hợp noãn được tiến hành bởi tác động của enzyme HYASE 80 IU (Vitrolife, Thụy Điển) và tác động cơ học khi đi qua các pipette có kích thước giảm dần từ 1,5 mm và 200  $\mu$ m đến 140  $\mu$ m.

#### Chuẩn bị tinh trùng

Tinh trùng sau khi ly giải sẽ được chuẩn bị bằng phương pháp ly tâm theo thang nồng độ với môi trường lọc rửa Sil- Select PlusTM (45% - 90% SİP050, Fertipro, Beernem – Bỉ) theo quy trình thường quy tại trung tâm.

#### Thực hiện tiêm tinh trùng vào bào tương noãn

Chỉ những noãn MII sau ICSI được cấy trong các giọt môi trường trong đĩa nuôi cấy đã chuẩn bị trước. Các đĩa nuôi cấy chứa các giọt có thể tích là 20  $\mu$ L môi trường G-TL (Vitrolife, Thụy Điển), được phủ 3 mL OVOIL và nuôi cấy trong tủ nuôi cấy benchtop IVFtech 6 chamber (IVFTECH ADS, Đan Mạch). Điều kiện nuôi cấy là 37°C, 6% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>.

#### Thu thập biến số nghiên cứu

- Những đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân liên quan như độ tuổi, nguyên nhân vô sinh, thời gian vô sinh, loại vô sinh, chỉ số khối cơ thể BMI, nồng độ AMH...

- Thông tin quá trình kích thích buồng trứng: liều đầu FSH, tổng liều FSH, số ngày kích thích buồng trứng, số lượng noãn thu hồi, số lượng noãn MII, số lượng noãn thụ tinh bình thường.

- Thông tin liên quan đến nuôi cấy phôi: số lượng phôi nang hình thành, số lượng phôi nang tốt.

Trong đó các biến số tỷ lệ quan trọng được định nghĩa:

- Chỉ số nhạy cảm buồng trứng (OSI - Ovarian Sensitivity Index): số noãn thu nhận được nhân 1000 và chia cho tổng liều FSH được sử dụng.

- Tỷ lệ noãn MII: được xác định là số noãn có sự hiện diện của thể cực thứ nhất chia cho tổng số noãn được thu hồi và được tính bằng %.

- Tỷ lệ thụ tinh bình thường được xác định là số

hợp tử biểu hiện 2 tiền nhân hoặc 2 thể cực vào thời điểm 18 giờ sau ICSI trên tổng số noãn MII và được tính bằng %.

- Tỷ lệ phôi nang được xác định là số phôi có sự hiện diện của khoang phôi vào thời điểm 116 giờ sau ICSI chia cho tổng số hợp tử hình thành và được tính bằng %.

- Tỷ lệ phôi nang tốt được xác định là tổng số phôi nang có biểu hiện đồng thời 3 đặc điểm: khoang phôi chiếm ít nhất 75% (độ nở loại 3 trở lên), khối tế bào nụ phôi nén chặt, lớp tế bào nuôi phôi liên kết chặt như lớp mô biểu bì (theo đánh giá phân độ A của Gardner and Schoolcraft - 1999) trên tổng số hợp tử 2PN và được tính bằng %.

### 2.3. Xử lý số liệu

Phần mềm SPSS 20 (SPSS, Chicago, Mỹ) được sử dụng để xử lý các dữ liệu và thống kê trong nghiên cứu. Các biến định lượng được kiểm tra phân phối chuẩn bởi Kolmogorov-Smirnov test. Những biến định lượng có phân phối chuẩn được so sánh trung bình  $\pm$  SD bởi T-test, trong khi đó các biến không theo phân phối chuẩn được so sánh trung vị và khoảng tứ phân vị (interquartile range) bởi Mann-Whitney U test. Các biến phân loại và tỷ lệ được so sánh với chi-square test và nếu có ít nhất một ô trong bảng 2x2 có tần suất kỳ vọng dưới 5 thì kiểm định Fisher được sử dụng. Mối liên quan giữa các biến được thực hiện bởi kiểm định Spearman. Mức ý nghĩa thống kê được chấp nhận khi giá trị  $p < 0,05$ .

### 2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh của trường Đại học Y – Dược Huế

xem xét và chấp thuận theo quyết định số H2023/017, ngày 20/03/2023. Dữ liệu lâm sàng và phôi học sử dụng trong phân tích này được thu thập từ tháng 01/2025 đến tháng 12/2025. Việc thu thập dữ liệu kết thúc vào tháng 12/2025, sau đó bộ dữ liệu được khóa để tiến hành phân tích thống kê. Không có thêm trường hợp nào được bổ sung sau thời điểm khóa dữ liệu. Nghiên cứu tuân thủ các nguyên tắc đạo đức trong nghiên cứu y sinh theo Tuyên bố Helsinki. Tất cả đối tượng tham gia đều được giải thích đầy đủ về mục tiêu nghiên cứu và đồng ý tham gia.

## 3. KẾT QUẢ

Tổng cộng 100 chu kỳ IVF có số noãn trưởng thành thấp với độ tuổi dưới 35 thỏa mãn tiêu chuẩn thu nhận dữ liệu vào nghiên cứu, trong đó 80 chu kỳ bệnh nhân có  $\geq 1$  phôi nang và 20 chu kỳ bệnh nhân không có phôi nang.

### 3.1. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Độ tuổi trung bình của người vợ là  $31,44 \pm 2,51$  năm (trung vị: 32,00; IQR: 4,00). Thời gian vô sinh trung bình là  $4,38 \pm 2,42$  năm. Chỉ số khối cơ thể trung bình của người vợ và chồng lần lượt là  $20,85 \pm 2,44$  kg/m<sup>2</sup> và  $23,84 \pm 3,41$  kg/m<sup>2</sup>. Nồng độ AMH trung bình đạt  $1,84 \pm 1,41$  ng/mL (trung vị: 1,45; IQR: 1,33). Nồng độ FSH, LH và E2 ngày 2 lần lượt là  $8,53 \pm 4,04$  IU/L;  $5,62 \pm 2,99$  IU/L; và  $42,04 \pm 47,19$  pg/mL. Phần lớn bệnh nhân đã từng tiếp cận các phương pháp hỗ trợ sinh sản trước đó, với 54% đã thực hiện IUI và 12% đã thực hiện IVF; chỉ 34% chưa từng điều trị. Số liệu thể hiện trong Bảng 1.

**Bảng 1.** Đặc điểm cơ bản của bệnh nhân

	Trung bình $\pm$ SD	Trung vị - IQR	Nhỏ nhất - lớn nhất
Độ tuổi vợ (năm)	$31,44 \pm 2,51$	32,00 - 4,00	24,00 - 34,00
Độ tuổi chồng (năm)	$33,76 \pm 4,14$	34,00 - 5,00	23,00 - 50,00
Thời gian vô sinh (năm)	$4,38 \pm 2,42$	4,00 - 4,00	1,00 - 10,00
BMI vợ (kg/m <sup>2</sup> )	$20,85 \pm 2,44$	20,60 - 2,66	15,63 - 32,87
BMI chồng (kg/m <sup>2</sup> )	$23,84 \pm 3,41$	23,81 - 3,56	15,97 - 41,42
AMH (ng/mL)	$1,84 \pm 1,41$	1,45 - 1,33	0,05 - 8,06
FSH ngày 2 (IU/L)	$8,53 \pm 4,04$	7,56 - 3,28	1,66 - 28,36
E2 ngày 2 (pg/mL)	$42,04 \pm 47,19$	34,93 - 26,30	5,00 - 469,40
LH (IU/L)	$5,62 \pm 2,99$	5,01 - 2,75	0,01 - 15,98
	<b>n</b>		<b>%</b>
Loại Vô sinh			
Vô sinh nguyên phát	76/100		76%
Vô sinh thứ phát	24/100		24%

Điều trị vô sinh		
Chưa điều trị	34/100	34%
Điều trị IUI	54/100	54%
Điều trị IVF	12/100	12%
Tình dịch đồ		
Bình thường	10/100	10%
Bất thường	84/100	84%
Bất thường nặng/Azoo	6/100	6%

Dữ liệu các biến số liên tục được trình bày theo trung bình  $\pm$  SD, trung vị và khoảng tứ phân vị (IQR); Các biến phân loại được trình bày theo số lượng (phần trăm).

*BMI: Body mass index; AMH: anti-Müllerian hormone; FSH: follicle-stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; E2: estrogen; IUI: Intrauterine insemination; IVF: In Vitro Fertilization*

### 3.2. Kết quả nuôi cấy phôi theo số noãn MII

Tổng cộng 100 chu kỳ tạo được 219 hợp tử 2PN. Nhóm  $\leq 2$  MII chiếm 32%, trong khi nhóm 3 - 4 MII chiếm 68%. Tỷ lệ trưởng thành noãn thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm  $\leq 2$  MII so với nhóm 3 - 4 MII (43,1% so với 62,9%;  $p < 0,001$ ). Tỷ lệ thụ tinh có xu hướng cao hơn ở nhóm  $\leq 2$  MII, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,116$ ). Các chỉ số phát triển

phôi ở mức hợp tử như tỷ lệ tạo phôi nang và tỷ lệ phôi nang tốt không khác biệt giữa hai nhóm ( $p > 0,05$ ). Khi đánh giá ở mức độ chu kỳ, nhóm 3 - 4 MII có tỷ lệ chu kỳ đạt được ít nhất một phôi nang cao hơn có ý nghĩa (86,8% so với 65,0%;  $p = 0,014$ ). Trong khi đó, tỷ lệ chu kỳ có ít nhất một phôi nang tốt không khác biệt giữa hai nhóm ( $p = 0,121$ ). Số liệu được mô tả ở Bảng 2.

**Bảng 2.** So sánh các chỉ số thụ tinh và phát triển phôi giữa hai nhóm số noãn MII

	Chung	$\leq 2$ MII	3 - 4 MII	P value
Số chu kỳ (n)	100	32	68	
2PN	219	44	175	
Tỷ lệ trưởng thành	58,1% (294/506)	43,1% (53/123)	62,9% (241/383)	< 0,001
Tỷ lệ thụ tinh (%)	74,5% (219/294)	83,0% (44/53)	72,6% (175/241)	0,116
Tỷ lệ tạo phôi nang (%)	63,0% (138/219)	61,4% (27/44)	63,4% (111/175)	0,800
Tỷ lệ tạo phôi nang tốt (%)	34,7% (76/219)	36,4% (16/44)	34,3% (60/175)	0,796
Chu kỳ có $\geq 1$ phôi nang	80% (80/100)	65% (21/32)	86,8% (59/68)	0,014
Chu kỳ có $\geq 1$ phôi nang tốt	55% (55/100)	43,8% (14/32)	60,3% (41/68)	0,121

### 3.3. Đặc điểm quá trình kích thích, nuôi cấy phôi liên quan đến khả năng hình thành và chất lượng phôi nang

Nhóm không có phôi nang có độ tuổi cao hơn (33,00 so với 31,00;  $p = 0,021$ ) và thời gian vô sinh dài hơn (5,50 so với 4,00 năm;  $p = 0,033$ ). Các yếu tố khác như BMI, AMH, nồng độ nội tiết cơ bản và các thông số kích thích buồng trứng không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Nhóm có ít nhất một phôi nang có số noãn MII cao hơn (3,00 so với 2,00;  $p = 0,018$ ) và tỷ lệ noãn MII cao hơn (75,00% so với 50,00%;  $p = 0,016$ ). Đồng thời, số hợp tử thụ tinh bình thường cũng cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm này (2,00 so với 1,00;  $p < 0,001$ ),

kèm theo tỷ lệ thụ tinh bình thường cao hơn (100% so với 58,33%;  $p = 0,009$ ). Số liệu được thể hiện ở Bảng 3.

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm về các đặc điểm nền (tuổi, BMI, thời gian vô sinh, AMH, FSH, LH, E2), phác đồ kích thích (liều FSH, số ngày kích thích), cũng như các chỉ số đáp ứng buồng trứng (số noãn thu hồi, số noãn MII, OSI) và kết quả thụ tinh (số hợp tử, tỷ lệ thụ tinh), tất cả  $p > 0,05$ . Nhóm có ít nhất một phôi nang tốt có tỷ lệ noãn MII cao hơn (80,0% so với 66,7%;  $p = 0,027$ ), số phôi nang hình thành cao hơn (2 so với 1;  $p = 0,001$ ) và tỷ lệ tạo phôi nang cao hơn (100% so với 50%;  $p = 0,008$ ). Số liệu được mô tả trong Bảng 4.

**Bảng 3.** Đặc điểm bệnh nhân và quá trình kích thích buồng trứng ở nhóm có và không có phôi nang tạo thành vào ngày 5

	<b>Có ≥ 1 phôi nang (n = 80)</b>	<b>Không có phôi nang (n = 20)</b>	<b>P value</b>
Độ tuổi vợ (năm)	31,00 - 3,00	33,00 - 2,00	0,021
Thời gian vô sinh (năm)	4,00 - 3,00	5,50 - 5,75	0,033
BMI vợ (kg/m <sup>2</sup> )	20,38 - 2,83	20,78 - 2,61	0,168
AMH (ng/mL)	1,45 - 1,52	1,50 - 1,19	0,928
FSH ngày 2 (IU/L)	7,80 - 3,18	7,07 - 2,77	0,398
E2 ngày 2 (pg/mL)	35,45 - 26,00	32,62 - 28,32	0,574
LH (IU/L)	5,17 - 3,71	4,21 - 1,87	0,120
Liều đầu FSH	225,00 - 0,00	225,00 - 25,00	0,220
Tổng liều FSH	2000,00 - 656,25	1987,50 - 600,00	0,415
Số ngày kích	9,00 - 2,00	9,00 - 2,50	0,630
Số noãn thu hồi	4,00 - 3,00	4,00 - 6,50	0,636
Chỉ số nhạy cảm buồng trứng (OSI)	2,22 - 1,59	1,61 - 3,50	0,352
Số noãn MII	3,00 - 2,00	2,00 - 2,75	0,018
Tỷ lệ noãn MII	75,00 - 42,14	50,00 - 41,48	0,016
Số hợp tử bình thường	2,00 - 1,00	1,00 - 1,00	< 0,001
Tỷ lệ noãn thụ tinh bình thường	100,00 - 33,33	58,33 - 75,00	0,009

*Dữ liệu trình bày dạng trung vị (IQR) BMI: Body mass index; AMH: anti-Müllerian hormone; FSH: follicle-stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; E2: estrogen; OSI: Ovarian Sensitivity Index*

**Bảng 4.** So sánh các đặc điểm lâm sàng và kết quả nuôi cấy phôi giữa hai nhóm có và không có ít nhất một phôi nang tốt

	<b>Có ≥ 1 phôi nang tốt (n = 55)</b>	<b>Không có phôi nang tốt (n = 25)</b>	<b>P value</b>
Độ tuổi vợ (năm)	31,00 - 4,00	31,00 - 3,50	0,424
Thời gian vô sinh (năm)	4,00 - 3,00	4,00 - 2,63	0,874
BMI vợ (kg/m <sup>2</sup> )	20,50 - 2,84	20,08 - 2,43	0,375
AMH (ng/mL)	1,37 - 1,15	1,79 - 1,83	0,139
FSH ngày 2 (IU/L)	7,55 - 3,44	8,27 - 3,40	0,772
E2 ngày 2 (pg/mL)	33,19 - 21,72	40,14 - 34,85	0,382
LH (IU/L)	4,80 - 2,52	5,92 - 5,13	0,140
Liều đầu FSH	225,00 - 0,00	225,00 - 0,00	0,582
Tổng liều FSH	2025,00 - 675,00	1875,00 - 637,50	0,770
Số ngày kích	9,00 - 2,00	8,00 - 2,00	0,698
Số noãn thu hồi	4,00 - 2,00	4,00 - 2,00	0,128
Chỉ số nhạy cảm buồng trứng (OSI)	2,22 - 1,63	2,29 - 1,69	0,253
Số noãn MII	3,00 - 2,00	3,00 - 2,00	0,878
Tỷ lệ noãn MII	80,00 - 33,33	66,67 - 50,00	0,027
Số hợp tử bình thường	3,00 - 1,00	2,00 - 1,00	0,495
Tỷ lệ noãn thụ tinh bình thường	100,00 - 33,33	75,00 - 33,33	0,639
Số phôi nang hình thành	2,00 - 1,00	1,00 - 1,00	0,001
Tỷ lệ phôi nang hình thành	100,00 - 33,33	50,00 - 58,34	0,008

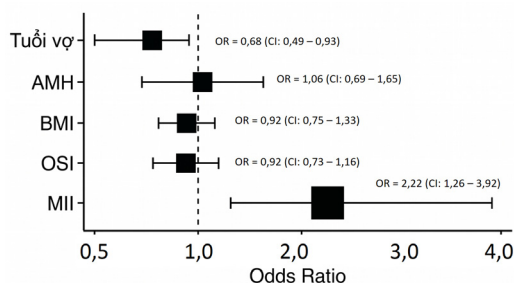
*BMI: Body mass index; AMH: anti-Müllerian hormone; FSH: follicle-stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; E2: estrogen; OSI: Ovarian Sensitivity Index*

### 3.4. Phân tích hồi quy logistic đa biến cho khả năng hình thành phôi nang

**Bảng 5.** Phân tích hồi quy logistic đa biến các yếu tố liên quan đến khả năng hình thành phôi nang

	OR (CI)	P value
Tuổi vợ	0,68 (0,49 - 0,93)	0,017
AMH	1,06 (0,69 - 1,65)	0,782
BMI	0,92 (0,75 - 1,13)	0,420
OSI	0,92 (0,73 - 1,16)	0,463
Số noãn MII	2,22 (1,26 - 3,92)	0,013

AMH: anti-Müllerian hormone; BMI: Body mass index; OSI: Ovarian Sensitivity Index



**Hình 1.** Phân tích đa biến về ảnh hưởng của các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng lên khả năng hình thành phôi nang

Phân tích hồi quy logistic đa biến được thể hiện trong Bảng, kết quả cho thấy tuổi vợ có liên quan nghịch có ý nghĩa thống kê với khả năng hình thành phôi nang (OR = 0,68; 95% CI: 0,49 - 0,93; p = 0,017). Ngược lại, số noãn MII có liên quan thuận có ý nghĩa thống kê, làm tăng khả năng hình thành phôi nang (OR = 2,22; 95% CI: 1,26 - 3,92; p = 0,013). Trong khi đó, AMH, BMI và OSI không có ý nghĩa thống kê trong mô hình đa biến (p > 0,05). Phân tích forest plot cho thấy tuổi vợ có liên quan nghịch, trong khi số noãn trưởng thành MII có liên quan thuận với khả năng phát triển đến giai đoạn phôi nang. Ngược lại, AMH, BMI và OSI không ghi nhận mối liên quan độc lập có ý nghĩa thống kê với sự hình thành phôi nang.

### 4. BÀN LUẬN

Nuôi cấy kéo dài đến giai đoạn phôi nang được xem là chiến lược tối ưu nhằm tăng chọn lọc phôi và tiệt cận sinh lý tử cung, dù có nguy cơ hủy chu kỳ. Nghiên cứu hiện tại được thiết kế chủ yếu nhằm đánh giá các kết cục phôi học trong một quần thể tương đối đồng nhất gồm phụ nữ dưới 35 tuổi có ít hơn 5 noãn trưởng thành. Cách tiếp cận này có thể góp phần tăng tính đồng nhất của quần thể nghiên cứu và hạn chế sai lệch khi so sánh các kết quả phôi học.

Để phân loại nhóm tiên thượng kém đối với kích thích buồng trứng hiện nay đang dựa trên phân loại của Poseidon dựa trên độ tuổi, số nang đếm được

(AFC - Antral Follicle Count) và nồng độ AMH [18]. Trường hợp số noãn MII dưới 5 là một trong những thách thức đáng kể đối với việc nuôi cấy phôi đến giai đoạn phôi nang. Các nghiên cứu trước đây cho thấy số hợp tử bình thường là nhỏ hơn 5 dẫn đến nguy cơ hủy chu kỳ cao hơn khi tiến hành nuôi cấy đến giai đoạn phôi nang [16]. Nghiên cứu của chúng tôi thu nhận các bệnh nhân dưới 35 tuổi, cụ thể độ tuổi trung bình là 31,44 ± 2,51 tuổi với sự phân bố 24,00 - 34,00 tuổi. Giá trị AMH trung bình là 1,84 ± 1,41 ng/mL với sự phân bố 0,05 - 8,06 ng/mL cho thấy yếu tố có số noãn trưởng thành thấp có thể xảy ra ở các đối tượng khác nhau dù độ tuổi còn khá trẻ và dự trữ buồng trứng tốt. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Heidary và cộng sự [19].

Trong bối cảnh nhóm bệnh nhân trẻ dưới 35 tuổi, tỷ lệ noãn MII khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm, với nhóm 3 - 4 MII cao hơn nhóm ≤ 2 MII (62,9% so với 43,1%; p < 0,001). Điều này cho thấy tuổi trẻ không đảm bảo đồng nhất về đáp ứng trưởng thành noãn, đặc biệt trong các trường hợp có dự trữ buồng trứng giảm hoặc đáp ứng kích thích không tối ưu. Tuy nhiên sự khác biệt ở tỷ lệ noãn MII không ghi nhận xu hướng giảm tỷ lệ thụ tinh và tỷ lệ tạo phôi nang, cũng như tỷ lệ phôi nang tốt. Tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi nang và tỷ lệ tạo phôi nang tốt ở nhóm ≤ 2 MII là: 83,0%; 61,4%; 36,4% không thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm còn lại tương

ứng là: 72,6%; 63,4%; 34,3% với các giá trị  $p > 0,05$ . Kết quả này cho thấy dù số noãn MII ít nhưng quá trình nuôi cấy phôi vẫn đạt các chỉ số KPI quan trọng của quá trình nuôi cấy phôi so với nhóm tiên lượng tốt [20].

Số noãn MII trong mỗi chu kỳ có mối liên quan đến khả năng đảm bảo sự hiện diện của ít nhất một phôi nang. Nghiên cứu của chúng tôi, nhóm chu kỳ có 3 - 4 MII cho thấy tỷ lệ đạt ít nhất một phôi nang cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm  $\leq 2$  MII (86,8% so với 65%;  $p = 0,014$ ). Kết quả này có thể được giải thích bởi cơ chế tích lũy xác suất trong quá trình phát triển phôi, trong đó mỗi noãn MII đại diện cho một đơn vị độc lập có khả năng phát triển đến phôi nang. Mối quan hệ tuyến tính giữa số noãn thu được và khả năng đạt phôi nang, đặc biệt trong các chu kỳ có số noãn thấp đến trung bình đã được tìm thấy trong một số nghiên cứu [11, 21]. Trong khi đó tỷ lệ phôi nang tốt không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm (60,3% so với 43,8%;  $p = 0,121$ ), cho thấy số lượng noãn MII không phải là yếu tố quyết định trực tiếp đến chất lượng phôi nang khi đã hình thành. Kết quả này phù hợp với các bằng chứng cho thấy chất lượng phôi nang chủ yếu phụ thuộc vào yếu tố nội tại của noãn và yếu tố giao tử đực, hơn là số lượng noãn thu được trong chu kỳ kích thích [22].

Phân tích sâu khả năng hình thành và chất lượng của phôi nang liên quan đến các đặc điểm lâm sàng và kích thích buồng trứng của bệnh nhân được chúng tôi khảo sát. Nhóm không có phôi nang có độ tuổi trung bình cao hơn, phù hợp với quy luật sinh học về sự gia tăng tỷ lệ lệch bội và suy giảm chất lượng ty thể theo tuổi mẹ [22]. Năng lực phát triển của phôi ở giai đoạn sớm phụ thuộc chặt chẽ chất lượng của tế bào chất từ noãn, vốn chứa các mRNA và protein cần thiết để duy trì sự sống trước khi quá trình hoạt hóa bộ gen phôi diễn ra hoàn toàn [9]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các đặc điểm lâm sàng và dự trữ buồng trứng không có sự khác biệt có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Zhanhui và cộng sự (2020), nhóm bệnh nhân ít noãn, những phôi đủ năng lực đạt trạng thái phôi nang sẽ có tiềm năng sinh học và tỷ lệ làm tổ tương đương với nhóm nhiều noãn [23]. Nuôi cấy kéo dài đến giai đoạn phôi nang có thể đóng vai trò như một cơ chế chọn lọc sinh học vừa giúp loại bỏ các phôi bất thường di truyền phức tạp, nhưng đồng thời cũng làm tăng nguy cơ không có phôi để chuyển ở nhóm có số noãn trưởng thành thấp [24]. Thực tế, những phôi không đủ năng lực tiến tới giai đoạn phôi nang thường mang các bất thường di truyền phức tạp, và việc chuyển phôi sớm ở ngày 3 trong trường hợp này chỉ trì hoãn thất bại, làm tăng số lần can thiệp không

cần thiết và áp lực tâm lý cho bệnh nhân [25, 26, 27].

Kết quả phân tích hồi quy logistic đa biến tại Bảng 5 tiếp tục xác định độ tuổi người vợ và số lượng noãn MII là hai biến số tiên lượng độc lập có ý nghĩa lâm sàng đối với khả năng hình thành phôi nang ( $p < 0,05$ ). Cụ thể, Tuổi người vợ có mối liên quan tỷ lệ nghịch với xác suất nuôi cấy lên được phôi nang vào ngày 5 (OR = 0,68; 95% CI: 0,49 - 0,93). Kết quả này củng cố luận điểm của Reig và cộng sự (2025) về hiện tượng dừng phát triển phôi tăng tiến theo tuổi sinh sản của người phụ nữ [28]. Sự suy giảm này đến từ tỷ lệ lệch bội cao, sự thoái hóa chức năng ty thể và mất cân bằng nội môi tế bào chất. Số lượng noãn MII thể hiện trọng số tác động lớn nhất đến kết quả nuôi cấy (OR = 2,22; 95% CI: 1,26 - 3,92) dù phân bố dưới 5. Đối với nhóm bệnh nhân ít noãn, năng lực phát triển của phôi phụ thuộc vào chất lượng của noãn MII hơn là các chỉ số dự trữ buồng trứng định lượng như AMH hay OSI ( $p > 0,05$ ). Kết quả phân tích hồi quy đa biến và forest plot cho thấy tuổi vợ và số noãn MII là hai yếu tố liên quan độc lập với khả năng hình thành phôi nang, trong khi AMH, BMI và OSI không có ý nghĩa thống kê. Khi số lượng noãn MII hạn chế, mỗi phôi đều đối mặt với ngưỡng sàng lọc khắt khe, dẫn đến khả năng hủy chu kỳ tăng cao [14]. Chỉ số AMH không phải là yếu tố tiên lượng độc lập cho khả năng hình thành phôi nang ( $p = 0,782$ ) mang lại một chỉ dấu lâm sàng tích cực. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Reig và cộng sự [28].

Nghiên cứu này vẫn còn một số hạn chế cần được xem xét khi diễn giải kết quả. Thứ nhất, nghiên cứu chỉ đánh giá các kết cục phôi học như tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ tạo phôi nang và chất lượng phôi nang mà chưa phân tích các kết cục lâm sàng sau chuyển phôi. Với cỡ mẫu gồm 100 bệnh nhân thu thập trong một năm và một tỷ lệ đáng kể chu kỳ không có phôi để chuyển, việc theo dõi và phân tích các kết cục lâm sàng gặp hạn chế về cỡ mẫu và tính đầy đủ của dữ liệu. Thứ hai, nghiên cứu chỉ phân tích các phôi nang ngày 5 nhằm bảo đảm tính đồng nhất về động học phát triển phôi, trong khi phôi nang ngày 6 vẫn có giá trị lâm sàng nhất định trong thực hành hỗ trợ sinh sản hiện nay. Do đó, việc không đưa phôi nang ngày 6 vào phân tích có thể ảnh hưởng phần nào đến khả năng khái quát hóa kết quả nghiên cứu. Ngoài ra, một tỷ lệ nhỏ bệnh nhân có bất thường tinh trùng nặng hoặc vô tinh vẫn được đưa vào phân tích nhằm phản ánh quần thể điều trị thực tế. Mặc dù tất cả các chu kỳ đều được thực hiện bằng kỹ thuật ICSI theo cùng quy trình labo chuẩn, sự khác biệt về đặc điểm và nguồn tinh trùng sử dụng (xuất tinh hoặc TESA/TESE) vẫn có thể ảnh hưởng một phần đến kết quả

phôi học. Do đó, cần có thêm các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định kết quả này.

## 5. KẾT LUẬN

Số lượng noãn MII là yếu tố quan trọng quyết định khả năng đạt ít nhất một phôi nang trong chu kỳ IVF, chủ yếu thông qua cơ chế xác suất tích lũy. Tuy nhiên, số lượng MII không ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng phôi nang khi đã hình thành. Tuổi người vợ vẫn là yếu tố tiên lượng quan trọng đối với năng lực phát triển phôi, mặc dù ở nhóm bệnh nhân dưới 35 tuổi, tình trạng thu nhận ít noãn MII vẫn có thể xảy ra. AMH và các chỉ số dự trữ buồng trứng không phải là yếu tố dự đoán độc lập cho chất lượng phôi nang. Do đó, trong nhóm bệnh nhân có số noãn trưởng thành thấp, cần cân nhắc chiến lược tối ưu hóa số noãn MII đồng thời cá thể hóa nuôi cấy phôi nhằm giảm nguy cơ không có phôi chuyển và tối ưu hóa hiệu quả chu kỳ.

**Xung đột lợi ích:** Các tác giả khẳng định không có xung đột lợi ích liên quan đến nghiên cứu, tác giả và xuất bản bài báo.

**Các tuyên bố khác:** Nghiên cứu không nhận được nguồn tài trợ từ bất kỳ tổ chức nào. Tất cả tác giả đều tham gia đầy đủ vào quá trình nghiên cứu và viết bài.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang J, Wang C, Zhang H, Zhou Y. Sequential cleavage and blastocyst embryo transfer and IVF outcomes: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2021 Dec 14;19(1):1-9.
2. Günther V, Dasari-Mettler A, Mettler L, Otte S von, Ackermann J, Maass N, et al. Is Blastocyst Culture Responsible for Higher Pregnancy Rates? A Critical Analysis of the Day of Optimal Embryo Transfer and Embryo Quality. *JBRA Assist Reprod.* 2022; 26(3):492-499
3. Cimadomo D, de los Santos MJ, Griesinger G, Lainas G, Le Clef N, McLernon DJ, et al. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. *Hum Reprod Open.* 2023 Jun 1;2023(3):1-29.
4. Esteves SC, Yarali H, Vuong LN, Carvalho JF, Özbek İY, Polat M, et al. Cumulative delivery rate per aspiration IVF/ICSI cycle in POSEIDON patients: a real-world evidence study of 9073 patients. *Hum Reprod.* 2021 Jul 19;36(8):2157-2169.
5. van Hoogenhuijze NE, van Eekelen R, Mol F, Schipper I, Groenewoud ER, Traas MAF, et al. Economic evaluation of endometrial scratching before the second IVF/ICSI treatment: a cost-effectiveness analysis of a randomized controlled trial (SCRATCH trial). Glujovsky D, editor. *Hum Reprod.* 2022 Jan 28;37(2):254-263.
6. Glujovsky D, Blake D, Bardach A, Farquhar C. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. In: Glujovsky D, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK:

John Wiley & Sons, Ltd; 2012:1-90.

7. Neblett MF, Kim T, Jones TL, Baumgarten SC, Coddington CC, Zhao Y, et al. Is there still a role for a cleavage-stage embryo transfer? *F S Reports.* 2021;2(3):269-274.
8. Zhu HB, Zhang ZH, Fadlalla E, Wang RX, Geng DF, Liu RZ. Culturing surplus poor-quality embryos to blastocyst stage have positive predictive value of clinical pregnancy rate. *Iran J Reprod Med.* 2014 Sep;12(9):609-616.
9. Mahmoudinia M, Sovizi B, Ebadi SMR, Zakerinasab F, Sadeghi T, Mahmoudinia M. Live Birth after Cleavage-Stage versus Blastocyst-Stage Embryo Transfer in Assisted Reproductive Technology: A Randomised Controlled Study. *Int J Fertil Steril.* 2024 Jul 13;18(Suppl 1):10-6.
10. Glujovsky D, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Ciapponi A, Cornelisse S, Blake D. Cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022 May 19;2022(6):1-126.
11. Ji H, Bai Q, Ding L, Jiang L, Shi Y, Wang L, et al. Prediction of blastocyst development using cleavage-stage embryo metrics and maternal age. *Sci Rep.* 2025 Jul 8;15(1):1-10.
12. Ezoe K, Miki T, Akaike H, Shimazaki K, Takahashi T, Tanimura Y, et al. Maternal age affects pronuclear and chromatin dynamics, morula compaction and cell polarity, and blastulation of human embryos. *Hum Reprod.* 2023 Mar 1;38(3):387-399
13. Campos G, Sciorio R, Fleming S. Healthy Live Births after the Transfer of Mosaic Embryos: Self-Correction or PGT-A Overestimation? *Genes (Basel).* 2023 Dec 21;15(1):1-15.
14. Zeng Y, Zhang Y, Cao Q, Gao Z, Tang T. Independent predictors and thresholds of in vitro fertilization outcomes in patients with diminished ovarian reserve. *Sci Rep.* 2025 May 29;15(1):1-15.
15. Stimpfel M, Jancar N, Ban-frangez H, Vrtacnik-bokal E. When to Transfer Embryos if There Is Only 1 or 2 ? life. 2023;13(417):1-10.
16. Croo I De, Tilleman K. No difference in cumulative live birth rates between cleavage versus blastocyst transfer in patients with four or fewer zygotes: results from a retrospective study. *Hum Reprod Open.* 2022;5:1-9.
17. Di Guardo F, Blockeel C, De Vos M, Palumbo M, Christoforidis N, Tournaye H, et al. Poor ovarian response and the possible role of natural and modified natural cycles. *Ther Adv Reprod Health.* 2022 Jan 14;16:1-8.
18. Grynberg M, Labrosse J. Understanding follicular output rate (FORT) and its implications for POSEIDON criteria. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10(Mar):1-7.
19. Heidary Z, Masoumi M, Dashtkoohi M, Sharifinejad N, Tarzjani MD, Ghaemi M, et al. The Association of AMH Level with the Number and Quality of Oocytes in Women Undergoing IVF/ICSI: A Single-Center Study. *J Reprod Infertil.* 2024 Mar 17:1-8.
20. Vaiarelli A, Zacà C, Spadoni V, Cimadomo D, Conforti A, Alviggi C, et al. Clinical and laboratory key performance indicators in IVF: A consensus between the Italian Society of Fertility and Sterility and Reproductive

Medicine (SIFES-MR) and the Italian Society of Embryology, Reproduction and Research (SIERR). *J Assist Reprod Genet* . 2023;40(6):1479–94.

21. Nader S. Hyperandrogenism during puberty in the development of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2013 Jul;100(1):39–42.

22. McCoy RC, Demko ZP, Ryan A, Banjevic M, Hill M, Sigurjonsson S, et al. Evidence of Selection against Complex Mitotic-Origin Aneuploidy during Preimplantation Development. Arnheim N, editor. *PLOS Genet* . 2015 Oct 22;11(10):1-31.

23. Ou Z, Du J, Liu N, Fang X, Wen X, Li J, et al. The impact of low oocyte maturity ratio on blastocyst euploidy rate: a matched retrospective cohort study. *Contracept Reprod Med* . 2024 Aug 26;9(1):1-7.

24. Önalın G, Tunç M, Tohma A, Günakan E, Eryılmaz T, Zeynelođlu HB. Extending the culture of cleavage-stage embryos to the blastocyst stage after warming increases the chance of live birth: does it have a regenerative effect? *Arch Gynecol Obstet*. 2023;307(6):1969–1974.

25. Glujovsky D, Cornelisse S, Blake D, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Cıapponi A. Blastocyst-stage versus cleavage-stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* . 2026 Jan 23;2026(1):1-51.

26. Orvieto R, Barnhart KT. Extended embryo culture to the blastocyst stage in in vitro fertilization: should it be the standard of care? *Fertil Steril*. 2025 Jul;124(1):37–39.

27. Jiang X, Cai J, Liu L, Liu Z, Wang W, Chen J, et al. Does conventional morphological evaluation still play a role in predicting blastocyst formation? *Reprod Biol Endocrinol* . 2022;20(68):1–12.

28. Reig A, Seli E. Developmental arrest rate of an embryo cohort correlates with advancing reproductive age, but not with the aneuploidy rate of the resulting blastocysts in good prognosis patients: a study of 25,974 embryos. *Aging (Albany NY)* . 2025 Oct 10;17(10):2552–2560.