

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Berman A.:** Reducing medication errors through naming, labeling, and packaging. *Journal of Medical Systems, February 2004, Vol 28 (1), pp.9-29.*
2. **FDA:** Drug name confusion: preventing medication errors. *FDA Consumer Magazine, July-August 2005.* Available: www.fda.gov/features/2005/405_confusi_on.html. Accessed January 6, 2009.
3. **Hospital Authority:** Look-alike Sound-alike (LASA) Medication names, Sharing of good practices to manage LASA drugs. *Medication Safety Bulletin, July 2011, Vol 2, pp.1-3.*
4. **Institute for Safe Medication Practices:** Progress with preventing name confusion errors. *ISMP Medication Safety Alert, August 9, 2007, Vol 12 (16), pp.1-3.*
5. **Institute for Safe Medication Practices:** A call to action: Eliminate handwritten prescriptions within 3 years! Electronic prescribing can reduce medication errors. *Institute for Safe Medication Practices, March 3, 2004.* Sources: Available at: www.ismp.org/MSAarticles/WhitepaperPrint.html. Accessed July 10, 2003.

6. **McCoy L.K.:** Look-alike, sound-alike drugs review: include look-alike packaging as an additional safety check. *Joint Commission Journal on Quality and Patient Safety, 2005, 31, pp.47-53.*
7. **Owensby J., Franklin B.D., McLeod M.:** Reducing the risks associated with look-alike, sound-alike drugs. *Annual Patient Safety Research Workshop 3rd, London, 16th December 2009.*
8. **Paoletti R.D., Suess T.M., Lesko M.G., et al:** Using bar-code technology and medication observation methodology for safer medication administration. *Am J Health-Syst Pharm, 2007, 64, pp.536-543.*
9. **US Pharmacopeia:** Look-Alike Sound-Alike drugs lead to thousands of medication errors nationwide. *U.S. Pharmacopeia 8th Annual MEDMARX® Report, January 29, 2008.* Available at: www.usp.org/aboutUSP/media/newsC enter.html?article=105435. Accessed March 26, 2008.
10. **WHO:** Patient Safety Solutions: Look-alike, Sound-alike Medication Names. *WHO Collaborating Centre for Patient Safety Solutions, May 2007, Vol 1, Solution 1.5*

MÔI TRƯỜNG DÙNG TRONG CÁC KỸ THUẬT HỖ TRỢ SINH SẢN

Nguyễn Thị Minh Khai¹, Nguyễn Việt Tiên^{2}*

Môi trường nuôi cấy dùng trong các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản luôn là một yếu tố quan trọng, quyết định đến tỷ lệ thành công của các kỹ thuật này. Các môi trường nuôi cấy phải chịu sự tác động của nhiều yếu tố, trong đó các yếu tố này phải tuân thủ các qui định chặt chẽ về mặt khoa học và kỹ thuật.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Điều kiện môi trường nuôi cấy ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ thành công của thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON). Ngày nay, tỷ lệ có thai tăng lên trong các kỹ thuật TTTON chủ yếu là do sự đóng góp của việc kích thích buồng trứng và tiếp đó là số lượng phôi chuyển tăng lên. Tuy nhiên, tỷ lệ có thai của một phôi chuyển thì vẫn còn tương đối thấp (từ 10-20%) [7]. Vì vậy, việc cải thiện điều kiện nuôi cấy có tầm quan trọng đặc biệt, giúp cải thiện sự phát triển của phôi, ngăn ngừa số phôi chết, dẫn đến tăng tỷ lệ làm tổ và tỷ lệ có thai [3].

II. CÁC LOẠI MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY PHÔI

Các loại môi trường nuôi cấy (cultural media) dùng trong TTTON có thành phần rất khác nhau, tuy nhiên khả năng hỗ trợ phôi phát triển đến ngày thứ 2 hay sau chuyển phôi của các môi trường này là tương tự nhau. Nói chung, môi trường cấy trước làm tổ áp dụng cho phôi các loại động vật có vú được chia làm 3 loại sau:

1. Dung dịch nuôi đơn giản có bổ sung năng lượng

Các môi trường này ban đầu được tạo thành để nuôi giao tử phát triển. Các môi trường “đơn giản” thường được bổ sung huyết thanh hoặc albumin huyết thanh.

2. Môi trường nuôi cấy mô phức tạp

Các môi trường này chứa các amino acid, vitamin, tiền chất nucleic acid, kim loại chuyển hóa và thường được bổ sung 5-20% huyết thanh [6]. Các loại môi trường này không phải là chuyên biệt cho nhu cầu phôi người.

3. Các môi trường chuyên tiếp

Cùng với sự phát triển của khoa học theo thời gian, các môi trường chuyên tiếp trong nuôi cấy phôi liên tục được phát triển và cải tiến. Những môi trường này như: G1/G2, Universal IVF, M3, P1 và Blastocyst Medium. Nhu cầu của phôi từ giai đoạn hợp tử đến phôi nang (blastocyt).

III. CÁC THÀNH PHẦN CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY PHÔI

1. Nước

Nước là thành phần chính của mọi loại môi trường, chiếm đến khoảng 99% [6]. Vì thế,

¹ThS., Bệnh viện Phụ sản Hà Nội; ^{2*}GS.TS., Trường Đại học Y Hà Nội

nguồn nước và độ tinh khiết của nước là yếu tố chính đảm bảo chất lượng môi trường.

2. Các Ion

Nguyên tắc dùng ion trong môi trường cấy TITON rất khác nhau. Tính đến nay, kiến thức về vai trò của các ion trong sự phát triển của phôi giai đoạn trước làm tổ vẫn còn hạn chế. Thành phần ion dịch vòi trứng ở người và ở chuột được phân tích cho thấy đặc trưng với nồng độ K^+ và muối chlorid cao, nồng độ thẩm thấu cao.

Các thành phần ion của môi trường có thể được điều chỉnh một cách lý tưởng dựa vào khả năng sống của phôi chuột khi cấy có thể phát triển đến giai đoạn phôi nang trong một giới hạn nồng độ các ion. Nồng độ K^+ trong môi trường có lợi cho sự phát triển của phôi và tạo điều kiện cho sự hoạt động của tinh trùng.

Nồng độ NaCl cao (125mmol) trong môi trường gây ảnh hưởng xấu đến sự phát triển của phôi đến giai đoạn phôi nang. Nồng độ này giảm xuống 85mmol sẽ giúp tăng tổng hợp mRNA và protein của phôi giai đoạn phân cắt.

Magiê và calci không cần thiết cho sự phát triển của phôi đến giai đoạn phôi nang. Việc tách sớm các tế bào hạt trong kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương (ICSI Intracytoplasmic sperm injection) có thể làm noãn chịu đựng sự sang chấn ion (ionic stress) [9].

Y vẫn gần đây bàn nhiều về tỷ lệ phosphat trong môi trường nuôi cấy phôi. Trong môi trường nuôi cấy đơn giản có chứa glucose, như HTF hay EBSS, sự hiện diện của phosphat làm cho sự phát triển của phôi bị ngưng trệ.

Bên cạnh các tác dụng đặc hiệu, các ion trong môi trường còn đóng góp một phần quan trọng đối với áp lực thẩm thấu. Người ta chưa xác định được áp lực thẩm thấu lý tưởng cho sự phát triển của phôi.

3. Các carbohydrat

Carbohydrat hiện diện trong dịch tiết đường sinh dục nữ với nồng độ thay đổi giữa vòi trứng – tử cung, cũng như thay đổi giữa các thời điểm trong chu kỳ kinh. Cùng với các amino acid, carbohydrat là chất cung cấp năng lượng chính cho phôi. Hầu hết các môi trường nuôi cấy chứa carbohydrat pyruvat, lactat và glucose.

4. Các amino acid

Dịch vòi trứng và tử cung chứa nồng độ đáng kể các amino acid tự do. Noãn bào và phôi chứa một hệ thống vận chuyển đặc hiệu đối với amino acid và duy trì kho các amino acid nội sinh. Phôi luôn nhận và chuyển hóa amino acid, cũng có nghĩa là amino acid đóng

vai trò sinh lý quan trọng trong giai đoạn phát triển trước và trong làm tổ của phôi.

5. Các vitamin

Mặc dù vitamin hiện diện trong các môi trường, nhưng người ta vẫn chưa hiểu rõ tác dụng của chúng đối với sự phát triển của phôi. Hiện tại, người ta vẫn chưa rõ chức năng của các vitamin đối với sự phát triển của phôi người, nhưng vai trò đối với sự trải rộng phôi nang và/hoặc nuôi phôi (hatching) là không thể loại trừ.

6. Tiền chất acid nucleic

Sự phát triển của phôi người và chuột đến giai đoạn phôi nang khi cấy không cần có sự hiện diện của tiền chất acid nucleic. Chưa có những nghiên cứu sâu hơn về vai trò của các nucleosid trong sự phát triển phôi, nhưng người ta khuyến nên loại bỏ chúng khỏi môi trường nuôi cấy phôi.

7. Các chelator

Sự phát triển của ion kim loại nặng vào môi trường nuôi cấy đã được chứng tỏ là làm tăng sự phát triển của phôi in vitro giai đoạn trước làm tổ.

Tuy nhiên, người ta cũng nhận thấy rằng, môi trường chứa ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), các amino acid không thiết yếu và glutamin, với cả transferrin không làm tăng khả năng phát triển của phôi chuột đến giai đoạn phôi nang. Vì thế, khi có EDTA và amino acid trong môi trường thì sự hiện diện của transferrin là không cần thiết.

8. Các chất chống oxy hóa (Antioxidants)

Người ta cho rằng một trong những nguyên nhân ngưng phát triển của phôi giai đoạn trước làm tổ khi cấy là stress oxy hóa. Những nguy cơ stress tiềm tàng như thế này gồm sự dụng oxygen áp lực cao (20%) [4], tiếp xúc với ánh sáng, hiện diện các kim loại chuyển hóa trong môi trường cấy.

9. Kháng sinh

Trước đây, người ta thường dùng những kháng sinh như penicillin, streptomycin hay gentamycin trong môi trường nuôi cấy phôi [5]. Tuy nhiên, một nghiên cứu mới đây cho rằng tốc độ phân cắt phôi người sẽ tăng lên nếu môi trường cấy không có kháng sinh. Điều quan trọng cần lưu ý là việc rửa phôi trong môi trường có kháng sinh sẽ giúp loại đi mọi vi khuẩn tạp nhiễm. Đối với chuẩn bị tinh trùng thì nhất thiết phải cần có kháng sinh trong môi trường.

10. Đại phân tử (Protein/Macromolecule)

Nguồn protein thường được dùng nhiều nhất trong TITON người và nuôi cấy phôi là huyết thanh bệnh nhân, với nồng độ 5-20% [8].

Khi cấy phôi giai đoạn tiền nhân đến giai đoạn phôi nang với sự hiện diện của huyết thanh thì chúng làm cho ty lạp thể (mitochondria) gấp nếp (cristae) bất thường, có thể kết hợp với giảm khả năng oxy hóa [7]. Những phôi này tăng sản xuất lactat, kết hợp với tổn thương ty lạp thể.

Nguyên nhân chính của sự hiện diện huyết thanh trong môi trường nuôi cấy là khả năng giúp phôi phát triển của dung dịch muối đơn giản và môi trường nuôi cấy mô bị hạn chế khi không có huyết thanh. Trong trường hợp môi trường không lý tưởng, huyết thanh đóng vai trò như một chelator và là một hệ đệm hữu ích để giúp giảm khả năng dao động pH khi đặt bên ngoài môi trường CO₂. Nếu môi trường không có huyết thanh thì có thể cho protein vào dưới dạng albumin huyết thanh.

Mặc dù albumin huyết thanh tương đối tinh khiết, nhưng nó vẫn chứa tạp chất như acid béo và những phân tử nhỏ khác. Gần đây đã có albumin huyết thanh tái tổ hợp, vì thế nên loại bỏ những vấn đề (phiên toái) liên quan đến việc sử dụng các chế phẩm máu.

11. Hormon yếu tố phát triển

Mặc dù phôi chuột có thể chuyển hóa các hormon steroid ngoại sinh, nhưng vẫn có bằng chứng về ảnh hưởng trực tiếp của hormon lên phôi giai đoạn sớm. Tuy nhiên, với prolactin nồng độ 300ng/ml cải thiện tốc độ phát triển đến giai đoạn phôi nang từ phôi chuột 2 tế bào [1]. Các bằng chứng hiện có cho thấy ảnh hưởng của hormon mẹ lên sự phát triển của phôi được điều hòa thông qua các tế bào trong đường sinh dục nữ.

Vai trò của các yếu tố phát triển (GF - Growth factor) lên sự phát triển của phôi các loài động vật có vú trước làm tổ đã được nghiên cứu rộng rãi trong những năm gần đây. Các yếu tố phát triển được nghiên cứu trên phôi gồm: IGF-I, IGF-II, EGF, TGF- α , TGF- β , PDGF-A, FGF-4 và LIF. Những yếu tố phát triển này hoặc kích thích phân cắt, chuyển amino acid, tổng hợp protein, hình thành khoang phôi (blastocoel) hoặc phát triển các tế bào bên trong túi phôi [2].

Yếu tố hoạt hóa tiểu cầu (PAF Platelet Activating Factor) được xem là dấu hiệu của phôi tạo ra sớm nhất, hay nói cách khác, trong môi trường nuôi cấy là dấu hiệu của sự sống. Hơn nữa, khi bổ sung PAF ngoại sinh thường làm tăng tỉ lệ có thai.

12. Hệ đệm

Hầu hết các môi trường sử dụng hệ đệm bicarbonat/CO₂ để duy trì pH sinh lý vào

khoảng 7,2-7,4. Việc sử dụng sodium bicarbonat yêu cầu từ cây CO₂ duy trì CO₂ 5% trong không khí [6]. Một ưu điểm của hệ đệm bicarbonat/CO₂ bởi nó chính là hệ đệm sinh lý trong dịch ngoại các tế bào. Tuy nhiên, nhược điểm chính là nó bị tăng pH nhanh chóng khi tiếp xúc với không khí, gây ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi hoặc thậm chí làm hoại tử tế bào nếu kéo dài. Một kỹ pháp cho vấn đề này là phủ lên một lớp dầu để giảm trao đổi khí khi đem đĩa cấy ra ngoài tủ cấy.

IV. KẾT LUẬN

Trong nhiều năm qua, cùng với sự phát triển của các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản, với những nỗ lực trong việc tìm hiểu đặc tính của môi trường sinh lý trong đường sinh dục nữ, các nhà nghiên cứu mong muốn tạo ra môi trường nhân tạo tối ưu trong thí nghiệm để đáp ứng nhu cầu phát triển của phôi. Tuy vậy, còn rất nhiều điều mà chúng ta chưa hiểu hết về những điều kiện này.

Trong nuôi cấy ống nghiệm đòi hỏi môi trường nhân tạo cũng có những thay đổi phù hợp với từng giai đoạn phát triển của phôi. Những môi trường nuôi cấy hiện nay mới chỉ đáp ứng được phần nào các yêu cầu trên, nhưng trong tương lai không xa, sẽ có nhiều tiến bộ hơn nữa trong hiểu biết và sản xuất các môi trường trong tự như sinh lý để đạt được thành công tốt nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brinsden P.R.: A textbook of In vitro Fertilization and Assisted Reproduction: the Boum Hall Guide to Clinical and Laboratory Practice. *Second Edition, The Pathenon Publishing Group, 1999.*
2. Dale B., Elder K.: In Vitro Fertilization. *The Second Edition, Cambridge University Press, 2000.*
3. Edwards R.G., Brody S.A.: *Principle and Practice of Assisted Human Reproduction. W.B. Saunders Company, 2001.*
4. Gardner D.K., Wiessman A., Howles C.M., Zeev Shoham: *Textbook of Assisted Reproductive Techniques. Martin Dunitz, 2001.*
5. Gianaroli L., Plachot M., Magli M.C.: *Atlas of Embryology. Human Reproduction, Oxford University Press, vol 15, Supplement 4, 2000.*
6. Lunenfeld B., Gooren L.: *Textbook of Men's health. The Parthenon Publishing Group, 2002, pp.586.*
7. Rijnders P.M.: *IVF Lab In Vitro Fertilization. Netherlands, Organon OSS, 1996.*
8. Sathanathan H.: *Visual Atlas of Human Sperm Structure and Function for Assisted Reproductive Technology. National University, Singapore, 1996.*
9. Trounson A.O., Gardner D.K.: *Handbook of In Vitro Fertilization. Second Edition, CRC Press I LLC, 2000.*