

EMBRYO CULTURE MEDIA IN IVF: IMPORTANCE AND CHANGES IN THE COMPOSITION AND CONCENTRATION OF ESSENTIAL COMPONENTS

Ngo Van Thinh*, Nguyen Ha Trang, Le Thi Thuy Dung

Phenikaa University Hospital

Received 14 May 2025

Accepted 16 June 2025

Abstract: This study provides a comprehensive overview of the changes in composition and concentration of essential components in embryo culture media used in vitro fertilization (IVF) over the past nearly 50 years. Initially, culture media used human or bovine serum, but due to concerns about contamination and instability, chemically defined media were developed. These media underwent significant changes in both component types and concentrations to optimize embryo culture efficiency. Two prominent development directions are sequential media and single-step media, which aim to optimize embryo development at each stage and minimize intervention, respectively. However, the lack of transparency in the disclosure of commercial culture media compositions has hindered research and optimization of IVF procedures over the years. Therefore, more in-depth studies are needed on the impact of each component on embryo development.

Keywords: *embryo culture media, media component, human preimplantation embryo, IVF.*

* Corresponding author:

E-mail address: thinhnv140293@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i5.217>

MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY PHÔI TRONG IVF: TẦM QUAN TRỌNG VÀ XU HƯỚNG THAY ĐỔI THÀNH PHẦN VÀ NỒNG ĐỘ CÁC THÀNH PHẦN THIẾT YẾU

Ngô Văn Thịnh*, Nguyễn Hà Trang, Lê Thị Thùy Dung

Bệnh viện đại học Phenikaa

Nhận ngày 14 tháng 05 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 16 tháng 06 năm 2025

Tóm tắt: Nghiên cứu này cung cấp cái nhìn toàn diện về sự thay đổi thành phần và nồng độ các thành phần thiết yếu của môi trường nuôi cấy phôi trong kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) trong gần 50 năm qua. Ban đầu, môi trường nuôi cấy sử dụng huyết thanh người hoặc bò, nhưng do lo ngại về nhiễm khuẩn và tính không ổn định, các môi trường xác định rõ ràng thành phần đã được phát triển và sự thay đổi thành phần và nồng độ của chúng đã được diễn ra mạnh mẽ để tối ưu hóa hiệu quả nuôi cấy phôi. Hai hướng phát triển nổi bật là môi trường nuôi cấy đa bước (sequential media) và môi trường đơn bước (single-step media), giúp tối ưu hóa sự phát triển của phôi tương ứng với từng giai đoạn và giảm thiểu sự can thiệp. Do thiếu sự công khai trong công bố thành phần môi trường nuôi cấy thương mại, nó đã gây cản trở cho việc nghiên cứu và tối ưu hóa quy trình IVF trong những năm qua. Vì vậy, cần có nhiều nghiên cứu sâu hơn về ảnh hưởng của từng thành phần đến sự phát triển của phôi.

Từ khóa: môi trường nuôi cấy phôi, thành phần môi trường, phôi tiền làm tổ ở người, IVF

1. Đặt vấn đề: Trong gần 50 năm kể từ khi Louise Brown – đứa trẻ đầu tiên sinh ra nhờ thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) chào đời, môi trường nuôi cấy phôi đã trải qua nhiều cải tiến đáng kể nhằm tối ưu hóa sự phát triển của phôi và nâng cao tỷ lệ thành công của IVF. Ban đầu, các môi trường nuôi cấy như Earle's Balanced Salt Solution và Ham's F-10 được sử dụng, thường bổ sung thêm huyết thanh người hoặc bò để cung cấp protein và yếu tố tăng trưởng cần thiết cho sự phát triển của phôi. Tuy nhiên, việc sử dụng huyết thanh mang đến nguy cơ biến động thành phần và nguy cơ nhiễm khuẩn, dẫn đến nhu cầu phát triển các môi trường nuôi cấy xác định rõ ràng hơn [1]. Sau đó,

các nhà nghiên cứu bắt đầu phát triển môi trường nuôi cấy dựa trên thành phần của dịch sinh dục tự nhiên. Môi trường Human Tubal Fluid (HTF) được thiết kế để mô phỏng thành phần của dịch ống dẫn trứng người, bao gồm các muối vô cơ, glucose, pyruvate, lactate và albumin huyết thanh người. Đây là một bước tiến quan trọng trong việc tạo ra môi trường nuôi cấy phù hợp hơn với điều kiện sinh lý của phôi [2]. Nhận thức được rằng nhu cầu dinh dưỡng của phôi thay đổi theo từng giai đoạn phát triển, các nhà khoa học đã phát triển môi trường nuôi cấy đa bước (sequential media). Ví dụ, môi trường G1/G2 được thiết kế để hỗ trợ phôi từ giai đoạn phân chia đến giai đoạn phôi nang, với sự điều chỉnh về nồng độ glucose, amino acid và các yếu tố khác phù hợp với từng giai đoạn. Để đơn giản hóa quy trình nuôi cấy và giảm thiểu sự can thiệp, các môi trường nuôi cấy đơn bước (single-step media) đã được phát triển. Những môi trường này chứa đầy đủ các thành phần cần thiết để hỗ trợ phôi từ giai đoạn hợp tử đến phôi nang mà không cần thay đổi môi trường trong quá trình nuôi cấy. Điều này giúp giảm thiểu stress cho phôi và giảm nguy cơ nhiễm khuẩn [3].

Dù đã đạt được nhiều tiến bộ trong nghiên cứu và ứng dụng, một thách thức đáng quan tâm hiện nay là thiếu sự công khai trong việc công bố thành phần và nồng độ của các môi trường nuôi cấy IVF thương mại. Công thức môi trường là thông tin mật thuộc sở hữu trí tuệ, dẫn đến việc không công khai đầy đủ các thông số thành phần. Điều này gây trở ngại đáng kể cho các nhà nghiên cứu và ứng dụng lâm sàng trong quá trình đánh giá, so sánh và tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy phù hợp [4].

Trong bối cảnh đó, bài viết này tập trung phân tích xu hướng thay đổi về thành phần cũng như nồng độ của các chất thiết yếu trong môi trường nuôi cấy (Bảng 1), nhằm góp phần đánh giá lại mức độ an toàn và tính phù hợp của các loại môi trường thương mại hiện hành, từ đó đặt nền tảng cho việc định hướng phát triển các hệ môi trường mới trong tương lai.

2. Nội dung

2.1 Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện theo phương pháp tổng quan tường thuật (narrative review), nhằm tổng hợp và phân tích có chọn lọc các tài liệu khoa học hiện có liên quan đến thành phần và nồng độ của các môi trường nuôi cấy IVF. Nguồn tài liệu được truy xuất từ các cơ sở dữ liệu khoa học uy tín như PubMed, Scopus và Web of Science, với các từ khóa tiếng anh bao gồm “IVF culture

media composition”, “IVF serum-free media”, “IVF media optimization”, “nutrient concentration in IVF culture media” và các từ khóa liên quan khác.

Tiêu chí lựa chọn tài liệu bao gồm các bài báo gốc, bài tổng quan và báo cáo kỹ thuật đã được công bố, có nội dung liên quan đến thay đổi về thành phần, nồng độ, hoặc tác động của các thành phần môi trường đến sinh lý phôi IVF. Dữ liệu thu thập được được phân loại và phân tích theo các nhóm thành phần chính như carbonhydrates, amino acid, vitamin, yếu tố tăng trưởng, từ đó làm rõ xu hướng thay đổi và các vấn đề đặt ra trong việc lựa chọn và phát triển môi trường nuôi cấy hiện nay.

2.2 Các thành phần thiết yếu trong môi trường nuôi cấy phôi trong IVF

2.2.1. Carbohydrates

Trong giai đoạn hợp tử và phôi phân cắt (lên tới giai đoạn 8 tế bào), pyruvate được ưu tiên sử dụng như nguồn cung cấp năng lượng chính, trong khi ở các giai đoạn phát triển tiếp theo (sau nén chặt), phôi có xu hướng thay đổi sang sử dụng glucose. Điều này liên quan đến sự thay đổi trong nhu cầu năng lượng tại thời điểm bộ gen phôi được kích hoạt. Sự chuyển đổi này đánh dấu sự thay đổi từ quá trình trao đổi chất ở mức thấp, phụ thuộc vào nguồn cung cấp từ mẹ, sang quá trình trao đổi chất tích cực hơn, trong đó phôi thai bắt đầu sử dụng các nguồn tài nguyên của chính mình, đặc biệt là glucose, để tạo ra năng lượng [5,6].

Bảng 1. Tổng hợp xu hướng thay đổi thành phần và nồng độ thành phần thiết yếu trong môi trường nuôi cấy phôi IVF.

| Thành phần thiết yếu | Xu hướng thay đổi thành phần/nồng độ | |
|----------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| | Ban đầu | Hiện nay |
| Carbonhydrate | | |
| <i>Pyruvate</i> | 0.3-0.5 mM | 0,2-0,3 mM: thụ tinh & phân cắt |
| | | 0,1 mM: phôi nang |
| <i>Glucose</i> | 2,5-3 mM | 0,5 mM: thụ tinh & phân cắt |
| | | 2,5-3,3 mM: phôi nang |

| | | |
|--------------------|---|---|
| <i>Lactate</i> | 5-10 mM | 1-2 mM |
| Amino acids | không bổ sung | 15-19 loại (tùy hãng sản xuất) |
| EDTA | 0,1mmol/L | 0,005-0,01 mmol/L |
| Kháng sinh | penicillin (100 IU/mL) streptomycin (100 µg/mL) | gentamicin (50 µg/mL) |
| Protein | serum, albumin (HSA) | rHSA |
| Vitamin | folic acid, cyanocobalamin | vitamin B, C & E |
| pH và đệm | HEPES | HCO ₃ ⁻ hoặc hỗn hợp |
| Áp suất thẩm thấu | 290-300 mOsm/kg | 255-275 mOsm/kg |
| Muối vô cơ | Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , SO ₄ ²⁻ & PO ₄ ²⁻ | Na ⁺ : 131,6-150,4 mM; K ⁺ : 2,6- 5,5 mM; Ca ²⁺ : 1,1-2,7 mM; Mg ²⁺ : 0,8-2,0 mM & PO ₄ ³⁻ : 0,5-1,0 mM |
| Yếu tố tăng trưởng | không bổ sung | IL-6; EGF; GM-CSF |

2.2.1.1 Pyruvate

Trước đây, môi trường nuôi cấy IVF đã chứng kiến những thay đổi về nồng độ pyruvate để tối ưu hóa sự phát triển của phôi. Các nghiên cứu ban đầu thường tập trung vào việc mô phỏng nồng độ tìm thấy trong ống dẫn trứng và tử cung để khám phá các tác động của nồng độ pyruvate lên các giai đoạn phát triển khác nhau của phôi [7]. Ở đó, môi trường sử dụng ban đầu thường có nồng độ pyruvate cao hơn ở các giai đoạn sau. Hiện tại, hầu hết các loại môi trường thương mại cho quá trình thụ tinh và giai đoạn phân cắt đều có nồng độ pyruvate ở mức 0,2 - 0,3mM và nồng độ này thấp hơn trong môi trường nuôi cấy phôi nang khi nồng độ chỉ ở mức khoảng 0,1mM [8]. Mức nồng độ này được cho là tương đương với nồng độ phân tích trong *in vivo*. Năm 1996, Gardner và cộng sự cho rằng nồng độ pyruvate trong ống dẫn trứng và của người giữa chu kỳ kinh và dịch tử cung trong suốt chu kỳ kinh nguyệt lần lượt là 0,32mM và 0,1mM [9]. Gần đây, Utsunomiya và cộng sự (2022) cũng đã báo cáo nồng độ pyruvate là 0,209mM trong ống dẫn trứng giữa chu kỳ và 0,106mM trong giai đoạn hoàng thể [10]. Năm 2024, Tarahomi và cộng sự cho rằng nồng độ pyruvate trong dịch tử cung là 0,08mM [11]. Ngược lại, nồng độ pyruvate trong môi trường nuôi cấy liên tục là nhất quán với nguyên tắc cho phôi tự chọn nguồn dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển miễn là nồng độ các chất

trong môi trường nuôi cấy nằm trong phạm vi chấp nhận được, bản thân phôi sẽ thích nghi và sử dụng những thứ phôi cần [1,8].

2.2.1.2 Glucose

Khi các nghiên cứu khám phá ra nhu cầu cụ thể của phôi người đối với glucose, nồng độ chất này trong môi trường nuôi cấy đã thay đổi từ nồng độ cao với 2,5-3mM xuống dưới mức 0,5mM hoặc thấp hơn trong giai đoạn nuôi cấy đến phôi phân cắt và sau đó quay trở lại với nồng độ cao hơn với 2,5-3,3mM trong nuôi cấy phôi nang [8,12]. Sự thay đổi này phản ánh sự hiểu biết ngày càng tăng về nhu cầu trao đổi chất của phôi và tác động tiềm tàng của glucose đối với sự phát triển của phôi. Nuôi cấy phôi giai đoạn phân cắt với nồng độ glucose thấp bắt nguồn từ các nghiên cứu trên chuột, ở đó người ta nhận thấy rằng phôi chuột không thể phát triển vượt quá giai đoạn 2 tế bào khi có glucose và phosphate [13,14]. Tuy nhiên, nghiên cứu sau này cho thấy sự gia tăng tỷ lệ hình thành phôi nang khi nuôi cấy trong môi trường có nồng độ glucose cao hơn [15]. Kể từ đó, người ta chấp nhận rằng nồng độ glucose không hoàn toàn ức chế sự phân cắt của phôi và thường không khuyến khích giảm nồng độ glucose trong môi trường nuôi cấy phôi giai đoạn phân cắt và các nhà sản xuất vẫn duy trì nồng độ glucose thấp trong môi trường nuôi cấy cho đến ngày nay. Các nghiên cứu *in vivo* gần đây đã báo cáo nồng độ glucose trong dịch vôi trứng ở mức 3,4mM [7] và đạt đến 5,1mM trong dịch tử cung của những phụ nữ khỏe mạnh [11]. Nhìn chung, sự khác biệt giữa nồng độ glucose được báo cáo trong cơ thể sống và những gì chúng ta hiện tìm thấy trong ống nghiệm đáng được quan tâm hơn.

2.2.1.3 Lactate

Tương tự như pyruvate và glucose, nồng độ lactate cũng đã trải qua nhiều thay đổi đáng kể, phản ánh sự tiến bộ trong hiểu biết về sinh lý phôi. Trước đây, người ta thường bổ sung lactate với nồng độ cao, dao động từ 5-10mM để hỗ trợ quá trình phát triển của phôi trong môi trường nuôi cấy. Tuy nhiên, nồng độ cao lactate này đã được chứng minh có hại cho phôi trong giai đoạn phân chia sớm khi ức chế quá trình oxy hóa pyruvate [8]. Do đó, sau nhiều nghiên cứu, người ta đã chỉ ra rằng nuôi cấy với nồng độ lactate thấp (1-2mM) cải thiện sự phát triển của phôi. Whitney và cộng sự (2022) đã báo cáo rằng khi nuôi cấy phôi với nồng độ lactate 1mM cho tỷ lệ phôi chuẩn bội cao hơn đáng kể khi nuôi cấy với nồng độ lactate 6-10mM [16]. Ngoài ra, nồng độ lactate thấp khi nuôi cấy còn giúp giảm tỷ lệ phôi khảm và cải thiện tỷ lệ thai lâm sàng [17]. Thực tế, môi trường nuôi cấy với

nồng độ lactate thấp giúp duy trì cân bằng giữ quá trình oxy hóa pyruvate và glycolysis, để từ đó cung cấp nguồn năng lượng hiệu quả hơn cho phôi, giúp giảm stress oxy hóa và cải thiện chất lượng phôi [18].

2.2.2. Amino acids

Trong thời kỳ đầu của IVF ở người, các loại môi trường nuôi cấy thường không bao gồm các amino acids và chỉ đến những năm cuối của thế kỷ trước chúng mới được Gardner thêm vào môi trường nuôi cấy. Trong môi trường nuôi cấy phôi phân cắt, chỉ có các amino acids không thiết yếu được đưa vào do lo ngại những ảnh hưởng tiêu cực đến quá trình phát triển của phôi khi tiếp xúc với các amino acids thiết yếu ở mức MEM (minimal essential medium) [19]. Gần đây, khi phân tích thành phần các amino acids trong các môi trường nuôi cấy thương mại, người ta nhận thấy rằng nồng độ các amino acids thiết yếu như histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan và valine thường thấp hoặc bằng 0 trong môi trường nuôi cấy giai đoạn thụ tinh và phân cắt, nhưng lại cao hơn trong môi trường nuôi cấy phôi giai đoạn phôi nang. Ngược lại, nồng độ các amino acids không thiết yếu như alanine, arginine, asparagine, aspartic acid, glutamine, glutamic acid, glycine, proline, serine, và tyrosine có sự biến động giữa các loại môi trường và nhà sản xuất [8]. Trong nghiên cứu *in vivo*, người ta nhận thấy nồng độ các amino acids thiết yếu trong dịch vòi trứng thấp hơn so với các môi trường thương mại hiện nay, nhưng nồng độ các amino acids thiết yếu, đặc biệt là glycine, cao hơn nhiều lần [19].

2.2.3. EDTA

EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) là một chất tạo phức với ion kim loại, được sử dụng trong môi trường nuôi cấy phôi nhằm cải thiện sự phát triển của phôi. Chúng có vai trò giảm độc tính của các ion kim loại nặng thông qua quá trình tạo phức, hạn chế hoạt động glycolysis sớm ở giai đoạn phân cắt, giúp phôi phát triển ổn định hơn và khắc phục hiện tượng "2-cell block" trong phôi chuột [20,21]. Ban đầu, EDTA được thêm vào với nồng độ 0,1mmol/L nhưng mức nồng độ này giảm sự phát triển của phôi nang và số lượng tế bào [21]. Các nghiên cứu gần đây cho rằng mức nồng độ 0,005-0,01 mmol/L không ảnh hưởng tiêu cực đến phôi chuột [22]. Với sự phát triển của môi trường nuôi cấy thương mại và nghiên cứu sâu hơn về nhu cầu của phôi, nồng độ EDTA đã được điều chỉnh để tối ưu hóa sự phát triển của phôi. Nghiên cứu trên phôi chuột ICR cho thấy nồng độ EDTA 200 μ M trong môi trường KSOM cải thiện đáng kể tỷ lệ phát triển đến giai đoạn phôi

nang, đặc biệt trong hệ thống nuôi cấy giọt nhỏ (10 μ l). Tuy nhiên, nồng độ EDTA quá cao (≥ 300 μ M) có thể gây giảm tỷ lệ phát triển do ảnh hưởng đến quá trình glycolysis và sự phát triển của phôi [23].

2.2.4. Kháng sinh

Việc bổ sung kháng sinh vào môi trường nuôi cấy nhằm ngăn ngừa sự nhiễm khuẩn, đảm bảo điều kiện vô trùng cho sự phát triển của phôi. Tuy nhiên, nồng độ và loại kháng sinh sử dụng đã có nhiều thay đổi theo thời gian để cân bằng giữa hiệu quả kháng khuẩn và tính an toàn cho phôi. Vào những năm 1980, môi trường nuôi cấy thường được bổ sung penicillin (100 IU/mL) và streptomycin (100 μ g/mL). Penicillin chủ yếu tác động lên vi khuẩn Gram dương bằng cách ức chế tổng hợp thành tế bào, trong khi streptomycin, một aminoglycoside, ức chế tổng hợp protein của vi khuẩn Gram âm. Tuy nhiên, streptomycin có thể gây độc cho phôi do ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp protein của tế bào phôi. Do những lo ngại về độc tính của streptomycin, gentamicin đã trở thành lựa chọn thay thế phổ biến [24]. Gentamicin, cũng là một aminoglycoside, có phổ kháng khuẩn rộng và được sử dụng ở nồng độ khoảng 50 μ g/mL trong môi trường nuôi cấy. Nó hiệu quả chống lại cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm, đồng thời ít gây độc cho phôi hơn so với streptomycin. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự ổn định của kháng sinh trong môi trường nuôi cấy có thể bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và thời gian. Do đó, việc lựa chọn kháng sinh có độ ổn định cao như gentamicin là cần thiết để đảm bảo hiệu quả kháng khuẩn trong suốt quá trình nuôi cấy. Mặc dù kháng sinh giúp ngăn ngừa nhiễm khuẩn, nhưng chúng cũng có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của phôi. Một số nghiên cứu cho thấy việc sử dụng kháng sinh có thể làm giảm chất lượng phôi, do đó, cần cân nhắc kỹ lưỡng về loại và nồng độ kháng sinh sử dụng để tối ưu hóa kết quả IVF. Hiện nay, các phòng thí nghiệm IVF đang hướng tới việc sử dụng môi trường nuôi cấy không chứa kháng sinh, kết hợp với các biện pháp vô trùng nghiêm ngặt để giảm thiểu nguy cơ nhiễm khuẩn. Ngoài ra, việc nghiên cứu và phát triển các loại kháng sinh mới với độ an toàn cao hơn cho phôi cũng đang được quan tâm [24,25].

2.2.5. Protein

Albumin huyết thanh người (HSA), thường là thành phần thiết yếu trong môi trường nuôi cấy phôi IVF. Albumin đóng vai trò như chất đệm pH, chất chống oxy hóa, chất vận chuyển lipid, hormone và kim loại vi lượng, đồng thời giúp ổn định màng tế bào và ngăn ngừa phôi bám dính vào dụng cụ nuôi cấy [26]. Ngoài albumin, các protein phức hợp chứa globulin α và β cũng được sử

dụng để mô phỏng môi trường sinh lý tự nhiên, hỗ trợ phát triển phôi và có thể cải thiện tỷ lệ làm tổ và sinh sống [27]. Protein trong môi trường nuôi cấy có thể thay đổi đáng kể trong bảo quản và nuôi cấy không có phôi (sham culture) cùng với sự thay đổi của nhiều amino acids thiết yếu như methionine, glycine và leucine [28]. Một thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên với 750 bệnh nhân IVF cho thấy việc sử dụng môi trường chuyển phôi với nồng độ protein bổ sung từ 10% đến 50% không ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ làm tổ, mang thai lâm sàng hoặc sinh sống [29]. Tương tự, một nghiên cứu khác cho thấy việc giảm nồng độ protein trong môi trường phục hồi phôi sau rã đông từ 10 mg/mL xuống 5 mg/mL không làm giảm tỷ lệ sống sót của phôi hoặc tỷ lệ mang thai [30]. Để giảm rủi ro từ các sản phẩm nguồn gốc huyết thanh, hyaluronic acid (HA) có thể thay thế albumin trong môi trường chuyển phôi và đã được chứng minh là cải thiện tỷ lệ làm tổ và mang thai ở một số nhóm bệnh nhân [1].

2.2.6. Vitamin

Vitamin tham gia vào các quá trình sinh hóa quan trọng như chống oxy hóa, điều hòa biểu hiện gen và chuyển hóa năng lượng. Tuy nhiên, chúng dễ bị phân hủy dưới tác động của ánh sáng, oxy, nhiệt độ và pH. Các vitamin như ascorbic acid, cyanocobalamin, folic acid và tocopherol thường là thành phần của các môi trường nuôi cấy IVF [31]. Mặt khác, bổ sung vitamin C và E giúp cải thiện chất lượng trứng thông qua giảm stress oxy hóa [32,33] và bổ sung vitamin nhóm B có thể cải thiện chất lượng trứng và phôi thông qua giúp giảm mức ROS nội bào, điều chỉnh biểu hiện gen và hỗ trợ quá trình methyl hóa DNA [34].

2.2.7. pH và hệ đệm

Hệ đệm trong môi trường nuôi cấy IVF đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì pH ổn định để phôi phát triển bình thường. HEPES và MOPS là hai loại đệm phổ biến nhất với pKa khoảng 7,2 - 7,4, phù hợp với sinh lý của phôi người. Việc sử dụng đơn lẻ một hệ đệm gây hạn chế khả năng điều chỉnh pH và nguy cơ gây độc tế bào khi ở nồng độ cao. Do đó, kết hợp nhiều loại đệm như NaHCO_3 và MOPS với các tỷ lệ khác nhau có thể mở rộng phạm vi đệm pH hiệu quả và giảm độc tính bằng cách giảm nồng độ từng đệm riêng lẻ [35,36]. Nghiên cứu của Quinn và cộng sự (2004), cho thấy nồng độ NaHCO_3 trong môi trường thụ tinh đã được giảm từ 22,6 mM xuống còn 20,2 mM, và trong môi trường phân chia phôi từ 22,6 mM xuống còn 15,6 mM, nhằm duy trì pH ổn định ở mức $7,2 \pm 0,1$ dưới điều kiện 5% CO_2 [37]. Các nghiên cứu trên mô hình chuột cho thấy việc giảm

nồng độ đệm từ 21 mM xuống còn 10–16 mM vẫn duy trì được pH ổn định và hỗ trợ sự phát triển của phôi tương đương với nồng độ cao hơn. Điều này đặc biệt quan trọng trong các quy trình như ICSI, nơi đệm có thể tiếp xúc trực tiếp với tế bào [38]. Mặt khác, ngày nay, người ta còn áp dụng chiến lược điều chỉnh pH môi trường theo giai đoạn phát triển của phôi. pH cao hơn trong giai đoạn thụ tinh, thấp hơn trong giai đoạn phân chia sớm (ngày 1–3), và cao hơn trở lại trong giai đoạn phôi nang (ngày 4–6). Điều này nhằm phản ánh nhu cầu sinh lý khác nhau của phôi ở từng giai đoạn phát triển [39].

2.2.8. Áp suất thẩm thấu

Ban đầu, môi trường nuôi cấy phôi sử dụng các dung dịch muối đơn giản như Krebs-Ringer Bicarbonate (KRB), Whitten's Medium và M16, với nồng độ ion cao và áp suất thẩm thấu khoảng 290–300 mOsm/kg. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy môi trường có áp suất thẩm thấu cao có thể gây stress thẩm thấu, ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển của phôi [2,40]. Vì vậy, các loại môi trường thương mại hiện nay thường có áp suất thẩm thấu thấp hơn so với các loại môi trường được sử dụng trong những ngày đầu của kỹ thuật IVF (khoảng 255–275 mOsm/kg). Môi trường nuôi cấy đơn bước thường có áp suất thẩm thấu khoảng 260–270 mOsm/kg, trong khi môi trường nuôi cấy liên tục có thể lên đến 285–295 mOsm/kg [41]. Áp suất thẩm thấu của môi trường nuôi cấy có thể thay đổi trong quá trình nuôi cấy do bay hơi, đặc biệt trong các tủ nuôi cấy khô. Nghiên cứu cho thấy áp suất thẩm thấu có thể tăng từ 263 mOsm/kg lên hơn 300 mOsm/kg sau 7 ngày trong tủ nuôi cấy khô, gây ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển của phôi. Ở đó, nồng độ của một số thành phần như amino acid, protein và ion có thể thay đổi đáng kể, ảnh hưởng đến sự ổn định của môi trường [28,41]. Việc sử dụng dầu phủ giúp giảm bay hơi, nhưng không hoàn toàn. Dầu paraffin được cho là hiệu quả hơn dầu mineral trong việc hạn chế bay hơi [41].

2.2.9. Muối vô cơ

Các loại môi trường nuôi cấy ban đầu thường bao gồm các ion Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} và đôi khi PO_4^{2-} . Tuy nhiên, những môi trường này không đủ để hỗ trợ sự phát triển toàn diện của phôi, dẫn đến hiện tượng phôi ngừng phát triển ở giai đoạn 2 tế bào ở chuột và 4–8 tế bào ở người. Sau đó, từ cuối những năm 1980, các môi trường như CZB và KSOM được phát triển với nồng độ muối vô cơ và độ thẩm thấu thấp hơn, giúp khắc phục hiện tượng trên. Việc bổ sung amino acid, đặc biệt là glycine, đóng vai trò như chất điều hòa thể tích tế bào, thay thế một phần ion vô cơ

nội bào, giúp duy trì môi trường nội bào ổn định cho sự phát triển của phôi [40]. Ngày nay, các môi trường nuôi cấy phôi thương mại được thiết kế để mô phỏng sát nhất môi trường ống dẫn trứng tự nhiên. Nồng độ của chúng thể hiện sự đa dạng (Natri (Na^+): 131.6–150.4 mM; Kali (K^+): 2.6–5.5 mM; Canxi (Ca^{2+}): 1.1–2.7 mM; Magie (Mg^{2+}): 0.8–2.0 mM và Phosphate (PO_4^{3-}): 0.5–1.0 mM). Sự khác biệt này phản ánh các chiến lược khác nhau trong việc thiết kế môi trường nuôi cấy, tùy thuộc vào giai đoạn phát triển của phôi và mục tiêu cụ thể của từng phòng thí nghiệm [8].

2.2.10. Các yếu tố tăng trưởng

Các dạng môi trường nuôi cấy ban đầu chứa chủ yếu muối khoáng và glucose. Cytokine như IL-6 và yếu tố tăng trưởng IGF-1 đã được nghiên cứu về vai trò trong phát triển và làm tổ của phôi. Nghiên cứu của molka và cộng sự (2022) cho thấy việc bổ sung IL-6 vào môi trường nuôi cấy có thể giảm tỷ lệ tế bào chết theo chương trình và cải thiện chất lượng phôi, cũng như tăng tỷ lệ làm tổ [42]. Mặt khác, các yếu tố tăng trưởng như GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor) cũng đã được nghiên cứu để cải thiện phát triển phôi và tỷ lệ làm tổ. Adanacioglu và cộng sự (2022) và Sciorio và cộng sự (2023) cho thấy GM-CSF có thể tăng tỷ lệ mang thai lâm sàng, đặc biệt ở phụ nữ trên 35 tuổi hoặc có chất lượng phôi kém [2,43]. Tuy nhiên, các kết quả vẫn còn mâu thuẫn và cần thêm nghiên cứu để xác định hiệu quả thực sự.

3. Kết luận

Sự cải tiến không ngừng của các hệ môi trường nuôi cấy trong IVF phản ánh nỗ lực tái tạo một vi môi trường sinh lý tối ưu nhằm hỗ trợ sự phát triển của phôi ngoài cơ thể. Tuy nhiên, hiệu quả và tính an toàn của quy trình này vẫn phụ thuộc đáng kể vào mức độ công khai và tính ổn định trong thành phần của môi trường nuôi cấy. Những dữ liệu thu được từ các nghiên cứu này sẽ là nền tảng khoa học cần thiết cho việc tiêu chuẩn hóa và cá thể hóa môi trường nuôi cấy, góp phần nâng cao chất lượng, độ ổn định và tính tái lập của kỹ thuật IVF trong lâm sàng.

Tài liệu tham khảo

- [1] I. Gruber and M. Klein, “Embryo culture media for human IVF: which possibilities exist?,” *J Turk Ger Gynecol Assoc*, vol. 12, no. 2, pp. 110–117, Jun. 2011, doi: 10.5152/jtgga.2011.25.

- [2] R. Sciorio and P. Rinaudo, “Culture conditions in the IVF laboratory: state of the ART and possible new directions,” *J Assist Reprod Genet*, vol. 40, no. 11, pp. 2591–2607, Nov. 2023, doi: 10.1007/s10815-023-02934-5.
- [3] S. Cooke, P. Quinn, L. Kime, C. Ayres, J. P. P. Tyler, and G. L. Driscoll, “Improvement in early human embryo development using new formulation sequential stage-specific culture media,” *Fertil Steril*, vol. 78, no. 6, pp. 1254–1260, Dec. 2002, doi: 10.1016/s0015-0282(02)04343-1.
- [4] R. J. Paulson and E. Y. Adashi, “The unbearable ignorance of the composition of IVF culture media,” *Reprod Biomed Online*, vol. 48, no. 3, p. 103645, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.rbmo.2023.103645.
- [5] “Human embryonic genome activation initiates at the one-cell stage - PubMed.” Accessed: May 13, 2025. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34936886/>
- [6] M. Paonessa, A. Borini, and G. Coticchio, “Genetic causes of preimplantation embryo developmental failure,” *Mol Reprod Dev*, vol. 88, no. 5, pp. 338–348, May 2021, doi: 10.1002/mrd.23471.
- [7] P. Quinn, *Culture Media, Solutions, and Systems in Human ART*. Cambridge University Press, 2014.
- [8] M. S. Zagers *et al.*, “The composition of commercially available human embryo culture media,” *Hum Reprod*, vol. 40, no. 1, pp. 30–40, Jan. 2025, doi: 10.1093/humrep/deae248.
- [9] D. K. Gardner, M. Lane, I. Calderon, and J. Leeton, “Environment of the preimplantation human embryo in vivo: metabolite analysis of oviduct and uterine fluids and metabolism of cumulus cells,” *Fertil Steril*, vol. 65, no. 2, pp. 349–353, Feb. 1996, doi: 10.1016/s0015-0282(16)58097-2.
- [10] T. Utsunomiya *et al.*, “Creation, effects on embryo quality, and clinical outcomes of a new embryo culture medium with 31 optimized components derived from human oviduct fluid: A prospective multicenter randomized trial,” *Reprod Med Biol*, vol. 21, no. 1, p. e12459, Apr. 2022, doi: 10.1002/rmb2.12459.
- [11] M. Tarahomi *et al.*, “In vivo human uterine temperature, pH, and uterine fluid composition analysis,” Nov. 19, 2024, *bioRxiv*. doi: 10.1101/2024.11.18.623470.
- [12] E. Chronopoulou and J. C. Harper, “IVF culture media: past, present and future,” *Hum Reprod Update*, vol. 21, no. 1, pp. 39–55, 2015, doi: 10.1093/humupd/dmu040.

- [13] R. Yanagimachi and M. C. Chang, “In vitro fertilization of golden Hamster ova,” *Journal of Experimental Zoology*, vol. 156, no. 3, pp. 361–375, 1964, doi: 10.1002/jez.1401560312.
- [14] S. A. Schini and B. D. Bavister, “Two-cell block to development of cultured hamster embryos is caused by phosphate and glucose,” *Biol Reprod*, vol. 39, no. 5, pp. 1183–1192, Dec. 1988, doi: 10.1095/biolreprod39.5.1183.
- [15] M. C. Summers and J. D. Biggers, “Chemically defined media and the culture of mammalian preimplantation embryos: historical perspective and current issues,” *Hum Reprod Update*, vol. 9, no. 6, pp. 557–582, 2003, doi: 10.1093/humupd/dmg039.
- [16] “P-225 Positive effects of low-lactate culture medium on embryo development and blastocyst ploidy status: a 3.5-year multi-clinic retrospective review | Human Reproduction | Oxford Academic.” Accessed: May 13, 2025. [Online]. Available: https://academic.oup.com/humrep/article/37/Supplement_1/deac107.217/6620620
- [17] A. Brewer, “RESULTING SUCCESS OF EARLY INTRODUCTION TO A LOW LACTATE CONTINUOUS EMBRYO CULTURE MEDIUM VERSUS A HIGHER LACTATE SEQUENTIAL SYSTEM,” *Fertility and Sterility*, vol. 120, no. 1, p. e12, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.fertnstert.2023.05.025.
- [18] S. H. Lee, X. Liu, D. Jimenez-Morales, and P. F. Rinaudo, “Murine blastocysts generated by in vitro fertilization show increased Warburg metabolism and altered lactate production,” *Elife*, vol. 11, p. e79153, Sep. 2022, doi: 10.7554/eLife.79153.
- [19] C. Consensus Group, “‘There is only one thing that is truly important in an IVF laboratory: everything’ Cairo Consensus Guidelines on IVF Culture Conditions,” *Reproductive BioMedicine Online*, vol. 40, no. 1, pp. 33–60, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.rbmo.2019.10.003.
- [20] Gardner, D. K., and M. Lane. "The 2-cell block in CF1 mouse embryos is associated with an increase in glycolysis and a decrease in tricarboxylic acid (TCA) cycle activity: alleviation of the 2-cell block is associated with the restoration of in vivo metabolic pathway activities." *Biol Reprod* 49, no. Suppl 1 (1993): 152, doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019195.
- [21] J. Abramczuk, D. Solter, and H. Koprowski, “The beneficial effect EDTA on development of mouse one-cell embryos in chemically defined medium,” *Dev Biol*, vol. 61, no. 2, pp. 378–383, Dec. 1977, doi: 10.1016/0012-1606(77)90308-6.

- [22] J. D. Biggers, L. K. McGinnis, and J. A. Lawitts, “One-step versus two-step culture of mouse preimplantation embryos: is there a difference?,” *Hum Reprod*, vol. 20, no. 12, pp. 3376–3384, Dec. 2005, doi: 10.1093/humrep/dei228.
- [23] S. Thapa, S. H. Kang, and Y. S. Heo, “Optimized culture systems for the preimplantation ICR mouse embryos with wide range of EDTA concentrations,” *R Soc Open Sci*, vol. 8, no. 4, p. 201752, Apr. 2021, doi: 10.1098/rsos.201752.
- [24] K. Lemeire, V. Van Merris, and R. Cortvrindt, “The antibiotic streptomycin assessed in a battery of in vitro tests for reproductive toxicology,” *Toxicol In Vitro*, vol. 21, no. 7, pp. 1348–1353, Oct. 2007, doi: 10.1016/j.tiv.2007.05.004.
- [25] C. O. Campos *et al.*, “Preventing Microbial Contamination during Long-Term In Vitro Culture of Human Granulosa-Lutein Cells: An Ultrastructural Analysis,” *ISRN Obstet Gynecol*, vol. 2012, p. 152781, 2012, doi: 10.5402/2012/152781.
- [26] D. E. Morbeck *et al.*, “Composition of protein supplements used for human embryo culture,” *J Assist Reprod Genet*, vol. 31, no. 12, pp. 1703–1711, Dec. 2014, doi: 10.1007/s10815-014-0349-2.
- [27] A. Canha-Gouveia *et al.*, “Physicochemical and Functional Characterization of Female Reproductive Fluids: A Report of the First Two Infants Born Following Addition of Their Mother’s Fluids to the Embryo Culture Media,” *Front Physiol*, vol. 12, p. 710887, 2021, doi: 10.3389/fphys.2021.710887.
- [28] M. Tarahomi *et al.*, “The composition of human preimplantation embryo culture media and their stability during storage and culture,” *Hum Reprod*, vol. 34, no. 8, pp. 1450–1461, Aug. 2019, doi: 10.1093/humrep/dez102.
- [29] J. Huang *et al.*, “The effect of protein supplement concentration in embryo transfer medium on clinical outcome of IVF/ICSI cycles: a prospective, randomized clinical trial,” *Reprod Biomed Online*, vol. 32, no. 1, pp. 79–84, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.rbmo.2015.10.004.
- [30] “P-138 Protein concentration of 5 mg/mL in recovery medium for thawed blastocysts is equivalent to 10 mg/mL in post-thaw survival and pregnancy rates | Human Reproduction | Oxford Academic.” Accessed: May 13, 2025. [Online]. Available: https://academic.oup.com/humrep/article/38/Supplement_1/dead093.502/7203466

- [31] A. Schnellbaecher, D. Binder, S. Bellmaine, and A. Zimmer, “Vitamins in cell culture media: Stability and stabilization strategies,” *Biotechnol Bioeng*, vol. 116, no. 6, pp. 1537–1555, Jun. 2019, doi: 10.1002/bit.26942.
- [32] O.-M. Boldura *et al.*, “Utilization of Rosmarinic and Ascorbic Acids for Maturation Culture Media in Order to Increase Sow Oocyte Quality Prior to IVF,” *Molecules*, vol. 26, no. 23, p. 7215, Nov. 2021, doi: 10.3390/molecules26237215.
- [33] M. Farzollahi, H. Tayefi-Nasrabadi, D. Mohammadnejad, and A. Abedelahi, “Supplementation of culture media with vitamin E improves mouse antral follicle maturation and embryo development from vitrified ovarian tissue,” *J Obstet Gynaecol Res*, vol. 42, no. 5, pp. 526–535, May 2016, doi: 10.1111/jog.12933.
- [34] A. Solati *et al.*, “The effect of antioxidants on increased oocyte competence in IVM: a review,” *Reproductive and Developmental Medicine*, vol. 7, no. 3, p. 180, Sep. 2023, doi: 10.1097/RD9.0000000000000063.
- [35] J. E. Swain and T. B. Pool, “New pH-buffering system for media utilized during gamete and embryo manipulations for assisted reproduction,” *Reprod Biomed Online*, vol. 18, no. 6, pp. 799–810, Jun. 2009, doi: 10.1016/s1472-6483(10)60029-6.
- [36] M. A. Will, N. A. Clark, and J. E. Swain, “Biological pH buffers in IVF: help or hindrance to success,” *J Assist Reprod Genet*, vol. 28, no. 8, pp. 711–724, Aug. 2011, doi: 10.1007/s10815-011-9582-0.
- [37] P. Quinn and S. Cooke, “Equivalency of culture media for human in vitro fertilization formulated to have the same pH under an atmosphere containing 5% or 6% carbon dioxide,” *Fertil Steril*, vol. 81, no. 6, pp. 1502–1506, Jun. 2004, doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.02.093.
- [38] M. Will and J. E. Swain, “Reducing Concentration and Combining Zwitterionic Buffers in IVF Handling Media Allows for Optimization of pH Buffering Capacity and Supports Mouse Blastocyst Development,” *Fertility and Sterility*, vol. 97, no. 3, Supplement, p. S19, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.01.044.
- [39] J. E. Swain, “Optimizing the culture environment in the IVF laboratory: impact of pH and buffer capacity on gamete and embryo quality,” *Reprod Biomed Online*, vol. 21, no. 1, pp. 6–16, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.rbmo.2010.03.012.

- [40] J. M. Baltz, “Media composition: salts and osmolality,” *Methods Mol Biol*, vol. 912, pp. 61–80, 2012, doi: 10.1007/978-1-61779-971-6_5.
- [41] R. de L. Bossi, B. C. V. Pinto, M. A. C. Sampaio, and S. Geber, “How to optimize culture media osmolality during Assisted Reproductive Technologies treatments,” *JBRA Assist Reprod*, vol. 27, no. 1, pp. 35–40, 2023, doi: 10.5935/1518-0557.20210123.
- [42] B. Molka *et al.*, “Follicular Fluid Growth Factors and Interleukin Profiling as Potential Predictors of IVF Outcomes,” *Front Physiol*, vol. 13, p. 859790, Jun. 2022, doi: 10.3389/fphys.2022.859790.
- [43] F. Adanacioglu, Ç. Çetin, G. Tokat, D. Adanacioglu, A. F. G. Karasu, and M. T. Çetin, “Comparison of the Effects of GMCSF-Containing and Traditional Culture Media on Embryo Development and Pregnancy Success Rates,” *Rev Bras Ginecol Obstet*, vol. 44, no. 11, pp. 1047–1051, Nov. 2022, doi: 10.1055/s-0042-1759630.