



NUÔI CẤY TẾ BÀO GỐC SINH TINH VÀ TINH TRÙNG

**Nguyễn Đình Tảo, Quản Hoàng Lâm,
Trịnh Thế Sơn và cộng sự**

Trung tâm Công nghệ Phôi, Học viện Quân Y

NUÔI CẤY TẾ BÀO DÒNG TINH

Nuôi cấy các tế bào dòng tinh là phương pháp điều trị trong tương lai đầy hứa hẹn cho các bệnh nhân không có tinh trùng trong tinh dịch không do tắc. Hiện nay trên thế giới một số tác giả đã tiến hành nuôi cấy và đã có được một số thành công bước đầu như Tesarik J, Sousa M (Tesarik và cs., 2001).

Năm 1940, Charny là người đầu tiên tiến hành sinh thiết tinh hoàn trên người với mục đích phân biệt azoospermia do tắc và không do tắc. Charny và các tác giả sau này đều nhận thấy, sinh thiết tinh hoàn là một tiêu chuẩn vàng để phân biệt azoospermia do tắc và không do tắc. Mẫu sinh thiết của bệnh nhân azoospermia do tắc sẽ biểu hiện quá trình sinh tinh bình thường. Ngược lại, ở bệnh nhân azoospermia không do tắc sẽ biểu hiện bởi hình ảnh bất thường của quá trình sinh tinh.

Rossalia Sa, Mario Sousa (2008) đã phân lập và nuôi cấy tế bào dòng tinh người, đánh giá sự trưởng thành dựa trên các tiêu chí hình thái học trên kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử (RossaliaSa và Mario Sousa, 2008).

Bình thường để thụ tinh trong ống nghiệm cần khoảng 100.000 tinh trùng cho 1 noãn. Đối với bệnh nhân tắc ống dẫn tinh, cần can thiệp vi phẫu MESA, PESA hoặc nuôi cấy tế bào gốc sinh tinh thì không thể đủ số lượng tinh trùng để thực hiện IVF được. Tuy nhiên nhờ sự phát triển của khoa học kỹ thuật, kỹ thuật vi thao tác trong hỗ trợ sinh sản đã có những bước tiến bộ đáng kể, biến việc không thể thành có thể. Kỹ thuật tiêm tinh trùng vào noãn là một bước tiến bộ vượt bậc, mang lại cơ hội được làm cha, mẹ và hạnh phúc cho nhiều gia đình trên thế giới.

Từ năm 2006 đến nay, nhiều tác giả đã tiến hành tiêm các tinh tử và tinh trùng sau nuôi cấy vào bào tương noãn, kết quả bước đầu mở ra nhiều triển vọng cho những cặp vô sinh, đặc biệt đối với những bệnh nhân azoospermia không do tắc, có chẩn đoán dòng tinh phát triển nửa chừng (maturation arrest) (Tesarik và cs., 2001).

Dong Ryul Lee và Kye Seong Kim (2006) đã phân lập tế bào dòng tinh của bệnh nhân azoospermia không do tắc, phát triển tinh trùng nửa chừng. Các tinh bào I được nuôi cấy đã phân chia giảm nhiễm thành tinh bào II và tinh tử. Tinh tử được tiêm vào noãn và được theo dõi trong những ngày tiếp theo. Kết quả cho thấy sau

1 ngày ISCI, 23,1% noãn được phát triển thành 2 tiền nhân (Dong Ryul Lee, 2006).

N. Sofikitis (2005) đã nuôi cấy tế bào gốc sinh tinh, công bố thành công với kỹ thuật ISCI: 75% tạo phôi với spermatid nuôi cấy và 24% có thai trên động vật thực nghiệm.

Trong những năm gần đây, nhóm nghiên cứu thuộc Trung tâm Công nghệ Phôi đã bước đầu nghiên cứu về vấn đề này và đạt được kết quả ban đầu. Chúng tôi đã tiến hành phân lập, nuôi cấy tế bào gốc sinh tinh. Kết quả bước đầu cho thấy tế bào gốc sinh tinh phát triển trong môi trường nuôi cấy, phân chia giảm nhiễm tạo thành các tinh tử tròn, tinh tử đang kéo dài và tinh tử đã kéo dài. Tuy nhiên, chất lượng tế bào này như thế nào là vấn đề chúng tôi đang tiếp tục nghiên cứu.

Để biết hiệu quả việc nuôi cấy tế bào dòng tinh, cần đánh giá số lượng và chất lượng các tế bào được sinh sản và phát triển trong môi trường nuôi cấy từ tế bào gốc sinh tinh và khả năng tạo phôi trong ống nghiệm. Gần đây chúng tôi bắt đầu thực hiện các nghiên cứu nhằm đánh giá sự biến đổi số lượng và hình thái tế bào gốc sinh tinh sau nuôi cấy, đặc biệt là khả năng thụ tinh và chất lượng phôi được tạo thành với tế bào tinh trùng sau nuôi cấy.

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ NUÔI CẤY TẾ BÀO DÒNG TINH

Mô hình nghiên cứu

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên 2 mô hình.

1. Mô hình động vật thực nghiệm: mẫu ống sinh tinh của chuột nhất chưa trưởng thành 7-8 ngày tuổi. Tinh trùng hoặc tinh tử được tiêm vào noãn chuột. Tỷ lệ thụ tinh và sự phát triển của phôi sau đó được theo dõi và ghi nhận.
2. Mô hình người: ống sinh tinh của 50 bệnh nhân azoospermia không do tắc nghẽn. Tinh trùng hoặc tinh tử được tiêm vào noãn người. Tỷ lệ thụ tinh và sự phát triển của phôi sau đó được theo dõi và ghi nhận.

Đánh giá hiệu quả của nuôi cấy tế bào dòng tinh dựa trên

các yếu tố sau: sự biến đổi mô học của các tế bào dòng tinh, tỷ lệ thụ tinh noãn và sự phát triển của phôi sau đó.

Tóm tắt kết quả nghiên cứu

VỀ BIẾN ĐỔI SỐ LƯỢNG VÀ HÌNH THÁI TẾ BÀO GỐC SINH TINH SAU NUÔI CẤY

Trong quá trình nuôi cấy, các tế bào gốc sinh tinh phân chia tạo thành tinh bào I, tinh bào II và tinh tử tròn, tinh tử đang kéo dài và tinh tử đã kéo dài. Các tinh tử có hình dạng đặc trưng, đường kính khoảng 7-8 μ , có nhân tụ đặc, lồi về một phía, túi cực đầu xuất hiện.

VỀ KHẢ NĂNG THỤ TINH VÀ CHẤT LƯỢNG PHÔI ĐƯỢC TẠO THÀNH VỚI TẾ TINH TRÙNG SAU NUÔI CẤY

- Trên thực nghiệm động vật (chuột): các tinh tử có khả năng thụ tinh tạo phôi với tỷ lệ là 68%, trong đó số phôi độ 4 và độ 3 ngày 2 đạt 60,6% và ngày 3 đạt 53,03%.
- Trên người: các tinh tử có khả năng thụ tinh tạo phôi với tỷ lệ là 64%, trong đó số phôi độ 4 và độ 3 ngày 2 đạt 66,02% và ngày 3 đạt 49,11%.

KẾT LUẬN

Nuôi cấy tế bào dòng tinh và sử dụng tinh tử hình thành sau nuôi cấy để tiêm vào noãn có thể tạo thành phôi. Đây là một hướng nghiên cứu tiềm năng để xác lập phương pháp điều trị cho các trường hợp không có tinh trùng không do tắc nghẽn và có hiện tượng sinh tinh nửa chừng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Nguyễn Thanh Tùng (2011), "Nghiên cứu hình thái cấu trúc hợp tử giai đoạn tiền nhân và phôi hai ngày tuổi trên bệnh nhân thụ tinh trong ống nghiệm", Luận án tiến sĩ y học.
2. Dong Ryul Lee (2006), " Isolation of male germ stem cell-like cell from testicular tissue of non-obstructive azoospermic patients and differentiation into haploid male germ cells in vitro.
3. Rossalia Sa, Mario Sousa, (2008), Cytological and expression Studies and Quantitative Analysis of the Temporal and Stage –Specific Effect of Follicle-Stimulating Hormone During Coculture of the Normal Human Seminiferous Epithelium
4. Sofikitis (2005), "Effort to create an artificial testis: Culture systems of male germ cells under biochemical conditions resembling the seminiferous tubular biochemical environment"
5. Tesarik et al (2001), "Assisted reproduction with in-vitro-culture testicular spermatozoa in cases of severe germ cell apoptosis: a pilot study", Human Reproduction vol.16, no.12, pp.2640-2645.