

KỸ THUẬT TIÊM TINH TỬ TRÒN VÀO BÀO TƯƠNG NOÃN

BS. Hoàng Lê Trung Hiếu, BS. Hồ Ngọc Anh Vũ

Đơn vị hỗ trợ sinh sản, Bệnh viện đa khoa Mỹ Đức

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, phương pháp tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI) đã được chứng minh là có hiệu quả trong điều trị nhiều trường hợp vô sinh nam. Nhóm bệnh nhân có tiền lượng trung bình, với tình trạng vô tinh không tắc nghẽn chiếm khoảng 2% nam giới, thường được chỉ định phẫu thuật để thu nhận tinh trùng làm ICSI (Aslam và cs., 1998). Trong khoảng 40% trường hợp như vậy, không thể lấy được tinh trùng trưởng thành qua sinh thiết tinh hoàn nhiều lần. Tiêm các loại tinh tử tìm thấy được trong mẫu mô sinh thiết có thể được đề xuất cho bệnh nhân thay vì tư vấn các lựa chọn xin tinh trùng hiến tặng hay nhận con nuôi (Silber vs cs., 1998). Tiêm tinh tử tròn vào bào tương noãn (Round spermatid injection – ROSI hay ROSNI) có thể được coi là một lựa chọn trong trường hợp không thu nhận được tinh trùng trưởng thành hoặc tinh tử dài trong mẫu sinh thiết tinh hoàn. Kỹ thuật này đã đưa đến một số ca sinh sống khỏe mạnh. Đây là tia hy vọng cho những cặp vợ chồng hiếm muộn do yếu tố nam có cơ hội có con di truyền dù không thu nhận được tinh trùng trưởng thành sau phẫu thuật.

KỸ THUẬT TIÊM TINH TỬ TRÒN VÀO BÀO TƯƠNG NOÃN

Tinh tử tròn là một dạng tiền thân của tinh trùng trưởng thành đã trải qua phân bào giảm nhiễm lần 2 với n nhiễm sắc thể và đang ở dạng hình dạng tròn, vẫn còn tế bào chất bao quanh

nhân, chưa phát triển đuôi và không có khả năng hoạt hóa noãn. Về mặt di truyền, do có cấu trúc nhiễm sắc thể đơn bội, đã đủ khả năng để thụ tinh cho noãn nếu nó xâm nhập được vào noãn. Tinh tử tròn có thể được thu thập qua mẫu tinh dịch xuất tinh hoặc qua các kỹ thuật sinh thiết tinh hoàn (TESE, microTESE).

Vào năm 1995, Vanderzwalmen và cộng sự đã báo cáo một trường hợp thụ tinh đầu tiên bằng kỹ thuật ROSI trên giao tử người. Các ống sinh tinh được ngâm trong môi trường đệm HEPES vài phút, sau đó được nghiền nhẹ nhàng giữa hai lam thủy tinh vô trùng trong môi trường nuôi cấy, sau đó huyền phù được cho vào ống nghiệm và trộn trong thời gian ngắn trên máy vortex, sau đó được ly tâm. Các tế bào thu thập được sẽ được tiêm vào noãn bào. Bằng cách này, nhóm tác giả báo cáo rằng tinh tử giai đoạn cuối có thể hoạt hóa noãn.

Sau đó, Tesarik và cộng sự (1996) đã công bố báo cáo loạt ca về kỹ thuật ROSI sử dụng tinh dịch xuất tinh của 15 người đàn ông vô tinh. Tinh dịch được ly tâm, trải qua quá trình phân tách thành các hạt nhỏ giàu tinh tử và được tái huyền phù trong môi trường chuẩn bị tinh trùng. Sau đó, các tinh tử sẽ được tiêm vào trong noãn, với tỷ lệ thai được báo cáo là 16,66%. Tesarik và cộng sự nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sử dụng toàn bộ tinh tử tròn, thay vì chiết tách tế bào chất và chỉ tiêm nhân tế bào vào bào tương noãn vì 3 lý do: (i) các yếu tố hoạt hóa noãn hiện diện trong bào tương của tinh tử, (ii) quá trình phân lập nhân của tinh tử có thể làm mất

các vật liệu trung thể (thể sao, trung tử), bào quan có vai trò quan trọng trong định hướng sự di chuyển của tiền nhân và hình thành thoi vô sắc nguyên phân của hợp tử, (iii) quá trình cô lập nhân có thể phá hủy lớp vỏ hạt nhân, làm phát sinh mất mát hoặc hư hỏng một phần của các vật liệu di truyền trong nhân.

Tinh tử tròn đông lạnh được sử dụng đầu tiên vào năm 1997, với tỷ lệ sống sau rã đông là 70% và tỷ lệ thụ tinh gần 50% (Antinori và cs., 1997). Những năm trở lại đây, nhóm nghiên cứu tại Nhật Bản của Tanaka và cộng sự đã công bố những kết quả vô cùng khả quan, ghi nhận sử dụng tinh tử tròn đông lạnh cho tỷ lệ thụ tinh tốt hơn và tỷ lệ thai cao hơn (Tanaka và cs., 2015; Takana và cs., 2018). Tương tự, các nghiên cứu trên chuột cũng cho thấy tinh tử tròn tươi không có khả năng hoạt hóa noãn sau ROSI nhưng nếu sử dụng tinh tử tròn sau rã đông thì có khả năng tự hoạt hóa noãn. Giả thuyết được đưa ra để giải thích cho hiện tượng trên là do một số yếu tố hoạt hóa noãn nội sinh trong tinh tử tròn dường như được kích hoạt thông qua quá trình đông lạnh – rã đông.

Tỷ lệ thai sau ROSI được báo cáo trong y văn dao động từ 3,12 – 53,09% (Tekayev và cs., 2021), với tỷ lệ thai cao được ghi nhận chủ yếu từ nhóm của Tanaka và cộng sự trong các nghiên cứu gần đây. Phân tích gộp của Hanson và cộng sự (2021) ghi nhận tỷ lệ thụ tinh sau ROSI là 38,7% (KTC 95%, 31,5 – 46,3), trong khi tỷ lệ thai tính trên số lần chuyển phôi là 3,7% (KTC 95%, 3,2 – 4,4). Tỷ lệ trẻ sinh sống tính theo số lần chuyển phôi còn thấp 4,3% (KTC 95%, 2,3 – 7,7). Tỷ lệ có thai cộng dồn trên mỗi cặp vợ chồng là 13,4% (KTC 95%, 6,8 – 19,1) và tỷ lệ trẻ sinh sống cộng dồn trên mỗi cặp vợ chồng là 8,1% (KTC 95%, 6,1 – 14,4). Có nhiều yếu tố khiến cho kỹ thuật ROSI có hiệu quả thấp, một trong những yếu tố này là do một số tinh tử tròn được sử dụng trong ROSI có thể đang trong quá trình thoái hóa (Tanaka và cs., 2018). Tinh trùng tròn và các loại tinh tử dài cực kỳ nhạy cảm với các độc tố sinh ra trong quá trình

hình thành tinh trùng, các đoạn DNA đứt gãy có thể được tích lũy trong các tế bào tinh tử tròn trong một thời gian dài (Jurisicova và cs., 1999). Một lý do khác giải thích cho tỷ lệ thụ thai thấp sau ROSI có liên quan đến việc hoạt hóa noãn không đúng cách (Tanaka và cs., 2018). Noãn bào sau khi được ICSI 30 phút sẽ được hoạt hóa noãn nhân tạo; trong khi đó, noãn bào trong ROSI phải được hoạt hóa trước khi thực hiện ROSI 10 phút.

NGUY CƠ VỀ THƯƠNG DI TRUYỀN VÀ TIỀM NĂNG ĐIỀU HÒA THƯƠNG DI TRUYỀN TRONG KỸ THUẬT ROSI

Tuy cùng mang bộ nhiễm sắc thể đơn bội, nhưng có sự khác biệt giữa hoạt động thương di truyền (epigenetics) trên bộ gen của tinh trùng trưởng thành và tinh tử tròn: bộ gen của tinh trùng được nén chặt bởi sự chuyển đổi từ các histone thành các protamine và DNA tinh trùng được methyl hóa ở những mức độ khác nhau. Tinh tử tròn với bộ nhiễm sắc thể đơn bội vẫn có nhân ở trạng thái chưa nén, có thể đưa đến những thay đổi về thương di truyền khi thụ tinh. Ngoài ra, các bệnh nhân vô sinh nam, ROSI cần phải có thêm một bước hoạt hóa noãn nhân tạo vì tinh tử tròn không thể thực hiện chức năng này. In vết gen là hiện tượng biểu hiện/tắt biểu hiện gen phụ thuộc vào việc gen đó được bố hay mẹ truyền lại cho đời con. Bản thân các bệnh nhân hiếm muộn nam có hiện tượng giảm sinh tinh cũng được ghi nhận là tăng nguy cơ bất thường in vết di truyền, tăng nguy cơ truyền tải lỗi tại các vị trí in vết. Vì nhiều nguyên nhân kể trên, nhiều nhóm nghiên cứu đang tìm cách hạn chế các nguy cơ bất thường thương di truyền sau thực hiện ROSI.

Chất ức chế histone deacetylase (HDACIs) tham gia vào quá trình tăng trưởng, biệt hóa và phát triển của tế bào. “Scriptaid” là một chất HDACI ít độc, được sử dụng trong môi trường nuôi cấy phôi chuột ROSI, giúp cải thiện tỷ lệ hình thành phôi nang và xa hơn là cải thiện tỷ lệ chuột sinh sống từ ROSI (Kong và cs., 2017;

Minh và cs., 2017). Scriptaid được chứng minh là giúp tăng biểu hiện của một số gen, duy trì nồng độ methyl hóa một số gen in vết, tăng số lượng tế bào trong khối ICM và giảm histone bị methyl hóa trong DNA tinh tử tròn, và tăng cường hoạt động phiên mã mRNA sơ khai ở phôi giai đoạn hai tế bào, tăng tốc độ phát triển của phôi ở giai đoạn phôi nang mở rộng. Scriptaid được hy vọng sẽ cải thiện hiệu quả và độ an toàn của ROSI ở người trong thực hành lâm sàng. Tuy nhiên, để ứng dụng tốt hơn trên người, rõ ràng cần phải có thêm nhiều nghiên cứu toàn diện hơn nữa.

LỰA CHỌN ĐÚNG TINH TỬ TRÒN ĐỂ TRÁNH THẤT BẠI KHI ROSI

Thất bại trong ROSI có thể do chọn sai tế bào tinh tử tròn. Các tế bào không phải tinh tử tròn có thể được quan sát thấy khi vi phẫu tích mẫu mô tinh hoàn thu được từ thủ thuật. Tinh tử tròn thường khó được nhận diện đúng về mặt hình thái vì tương tự như tế bào lympho (Aslam và cs., 1998). Hình thái bình thường của tinh tử tròn là các tế bào với kích thước khoảng 7 – 8 μm , nhìn thấy được nhân tế bào, bao quanh bởi tế bào chất liên tục (Tesaik và cs., 1998).

Để giải quyết những khó khăn chính liên quan đến lựa chọn tinh tử tròn cho ROSI, nhiều kỹ thuật mới đang được phát triển. Hayama và cộng sự (2016) đã phát triển một kỹ thuật dựa trên phương pháp flow cytometry để phân lập tinh tử tròn. Một số nghiên cứu khác sử dụng công nghệ kênh dẫn vi lưu (microfluidic), sử dụng một lượng nhỏ mẫu chất lỏng, để xác định các tinh tử tròn (Samuel và cs., 2016; Tasoglu và cs., 2013). Một phương pháp thay thế có thể được sử dụng để xác định tinh tử tròn là công nghệ giải trình tự tế bào đơn (single cell sequencing technology) (Guo và cs., 2018). Phương pháp này ban đầu được sử dụng để xác định các ấn chỉ trên tế bào dòng sinh tinh, nhưng sau đó được nhận thấy là có thể nhanh chóng xác định các tinh tử tròn và tăng hiệu quả của kỹ thuật ROSI.

SỨC KHỎE CỦA TRẺ SINH RA TỪ KỸ THUẬT ROSI

Đến hiện tại, theo các báo cáo từ y văn, có khoảng 107 em bé đã ra đời từ kỹ thuật ROSI. Tuy nhiên, mới chỉ có một nghiên cứu khảo sát sự phát triển thể chất và tinh thần của các trẻ sinh ra từ kỹ thuật này. Nghiên cứu tại Nhật Bản so sánh sự phát triển sau hai năm của 90 trẻ sinh ra từ kỹ thuật ROSI so với 1818 trẻ thụ thai tự nhiên (Tanaka và cs., 2018). Ở nhóm trẻ ROSI, có ba trẻ có dị tật bẩm sinh được báo cáo gồm có khiếm khuyết vách liên thất tự phục hồi tự nhiên sau đó và dị tật khác như nứt môi và thoát vị rốn được phẫu thuật chỉnh sửa thành công mà không có biến chứng (Tanaka và cs., 2018). Tỷ lệ này không khác biệt có ý nghĩa so với tỷ lệ dị tật tương tự ở trẻ thụ thai tự nhiên, có thể do số lượng em bé ROSI trong nghiên cứu còn ít. Cân nặng và sự tăng cân của các bé ROSI tương đương với các bé thụ thai tự nhiên, trừ nhóm trẻ trai ROSI lúc 1,5 tuổi. Các bé trai này được ghi nhận nhẹ cân hơn rõ rệt, nhưng sau khi đến 2 tuổi, các bé tăng cân và được ghi nhận là tương tự như các bé thụ thai tự nhiên. Ngoài ra, nghiên cứu cũng báo cáo rằng sự phát triển nhận thức của các bé ROSI là tương tự các bé thụ thai tự nhiên (Tanaka và cs., 2018).

KẾT LUẬN

Kỹ thuật ROSI vẫn còn tồn tại nhiều khuyết điểm và đạt tỷ lệ thành công thấp, khiến việc được áp dụng trong thực hành lâm sàng còn rất hạn chế. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây đã cho thấy có những cải thiện rất lớn về kết cục lâm sàng so với trước đó. Để tăng tỷ lệ thành công của kỹ thuật ROSI, các tinh tử tròn cần được đánh giá và lựa chọn một cách chính xác. Những cải tiến trong xác định tinh tử tròn có thể hỗ trợ cho thực hành ROSI tốt hơn trên lâm sàng. Cần có thêm nhiều nghiên cứu với cỡ mẫu lớn về các kết cục điều trị hỗ trợ sinh sản sau ROSI cũng như các nghiên cứu theo dõi dài hạn sức khỏe trẻ sinh ra từ kỹ thuật này.

 [Mời xem tiếp](#)
ở trang 72