

Đánh giá khả năng biệt hóa của tinh tử sau nuôi cấy

*Trịnh Quốc Thành**; *Quản Hoàng Lâm**
*Nguyễn Đình Tảo**; *Nguyễn Viết Tiến***

TÓM TẮT

Tinh tử sau khi trải qua quá trình biệt hóa mới hình thành tinh trùng. Tinh trùng có nhiều khả năng thụ tinh. Ở nhiều bệnh nhân (BN), quá trình biệt hóa này diễn ra không hoàn toàn, đôi khi dừng lại ở tinh tử. Thực hiện nuôi cấy làm cho quá trình biệt hóa của tinh tử diễn ra thuận lợi hơn và quá trình thụ tinh cũng đạt hiệu quả cao hơn.

Kết quả nuôi cấy tinh tử sau 24 giờ cho thấy: khả năng biệt hóa của tinh tử tăng lên đáng kể, với tỷ lệ 57,15% tinh tử tròn biệt hóa thành tinh tử đang kéo dài; 55,56% tinh tử đang kéo dài biệt hóa thành tinh tử đã kéo dài và 64,29% tinh tử đã kéo dài biệt hóa thành tinh trùng. Tuy nhiên, tinh tử sau 48 giờ nuôi cấy chưa thấy sự biệt hóa đáng kể so với thời điểm 24 giờ.

* Từ khóa: Tinh tử; Khả năng biệt hóa.

Evaluation of ability of spermatid differentiation after culture

SUMMARY

Implementing culture makes the process of spermatid differentiation occur more favorable, so that the process of fertilization is more efficient.

Spermatid culture results after 24 hours showed the ability of spermatid differentiation significantly increased, the rate of 57.15% round spermatid differentiate into elongating spermatid, 55.56% of elongating spermatid differentiate into elongated spermatid and 64.29% of elongated spermatid differentiate into sperm.

* *Key word: Spermatid; Differentiation.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh nam do rối loạn sinh tinh là một trong những nguyên nhân khó nhất trong điều trị vô sinh. Đặc biệt, những trường hợp

các tế bào dòng tinh không biệt hóa đến giai đoạn cuối cùng là tinh trùng [1] mà chúng chỉ dừng lại ở tinh bào II hay giai đoạn của tinh tử, thậm chí là tinh bào I hay tinh nguyên bào.

* Học viện Quân y

** Bệnh viện Phụ sản Trung ương

Phản biện khoa học: PGS. TS. Hoàng Văn Lương

Với những trường hợp này, giải pháp tốt nhất là áp dụng biện pháp nuôi cấy tế bào dòng tinh. Tuy nhiên, việc nuôi cấy tế bào dòng tinh (nhất là tinh tử) mới được thực

hiện gần đây và kết quả còn ít được thông báo [2, 4]. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu thử nghiệm đánh giá quá trình biệt hóa

của tinh tử nhằm tìm kiếm thêm giải pháp khắc phục vô sinh nam.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

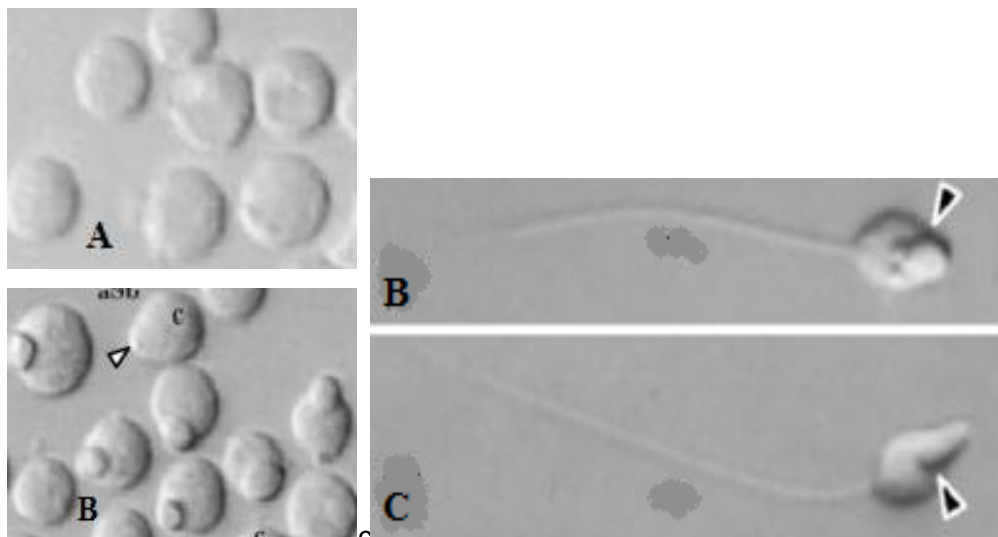
30 BN không có tinh trùng trong tinh dịch do rối loạn sinh tinh, được điều trị tại Trung tâm Công nghệ Phôi, Học viện Quân y từ 1 - 2008 đến 12 - 2009.

2. Phương pháp nghiên cứu.

Chuẩn bị BN: tê thường tinh tại chỗ bằng lidocain 2%, mở tinh hoàn, sinh thiết mảnh mô tinh hoàn cho nuôi cấy. Khâu cầm máu tinh hoàn và đóng tinh hoàn theo lớp.

Tách các tế bào dòng tinh bằng nghiền nhẹ mảnh mô tinh hoàn kết hợp với men collagenasa tít IV. Tiến hành nuôi cấy tinh tử theo phương pháp của Sousa (2002) và Tesarik (1998, 2001). Là phương pháp đồng nuôi cấy giữa tế bào Sertoli và các tế bào dòng tinh. Điều kiện: ủ ấm 32°C, 5% CO₂, Gamete - 100; FSH 50 mIU/ml, testosterone 1 µmol/ml, FCS 10% [2, 3, 4, 5].

Các chỉ tiêu quan sát: tinh tử tròn biệt hóa thành tinh tử đang kéo dài, tinh tử đang kéo dài biệt hóa thành tinh tử đã kéo dài và tinh tử đã kéo dài biệt hóa thành tinh trùng (ảnh 1 [2]). Thời gian nuôi cấy 24, 48 giờ.



Ảnh 1. Các hình thái tinh tử theo Sousa (2002) [2].

A: tinh tử tròn; B: tinh tử đang kéo dài; C: tinh tử đã kéo dài.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ

BÀN LUẬN

Qua thời gian nuôi cấy, một số chỉ tiêu để đánh giá khả năng biệt hóa của tinh tử được quan sát như sau:

1. Từ tinh tử tròn thành tinh tử đang kéo dài.

Bảng 1: Tỷ lệ tinh tử tròn biệt hóa thành tinh tử đang kéo dài

	TINH TỬ TRÒN (số ca, tỷ lệ)		P
Thời điểm 0 giờ (1)	7/30 (23,33%)		
Thời điểm 24 giờ (2)	Tinh tử tròn	Tinh tử đang kéo dài	$p_{2.1} < 0,05$
	3/7 (42,85%)	4/7 (57,15%)	$p_{3.2} > 0,05$
Thời điểm 48 giờ (3)	Tinh tử tròn	Tinh tử đang kéo dài + tinh tử đã kéo dài	$p_{3.1} < 0,05$
	3/7 (42,85%)	4/7 (57,15%)	$p_{3.2} > 0,05$

Khả năng biệt hóa từ tinh tử tròn thành tinh tử đang kéo dài là 57,15%, chứng tỏ có nhiều nguyên nhân ức chế quá trình biệt hóa của tinh tử ở BN và quá trình nuôi cấy phần nào giải phóng các nguyên nhân đó, giúp quá trình biệt hóa được thuận lợi hơn, nhất là ở thời điểm 24 giờ [1, 4].

2. Từ tinh tử đang kéo dài thành tinh tử đã kéo dài.

Bảng 2: Tỷ lệ tinh tử đang kéo dài thành tinh tử đã kéo dài sau nuôi cấy.

	TINH TỬ ĐANG KÉO DÀI (số ca, tỷ lệ %)		P
Thời điểm 0 giờ (1)	9/30 (30,00%)		
Thời điểm 24 giờ (2)	Tinh tử đang kéo dài	Tinh tử đã kéo dài	$p_{2.1} < 0,05$
	4/9 (44,44%)	5/9 (55,56%)	$p_{3.2} > 0,05$
Thời điểm 48 giờ (3)	Tinh tử đang kéo dài	Tinh tử đang kéo dài + tinh tử đã kéo dài	$p_{3.1} < 0,05$
	4/9 (44,44%)	5/9 (55,56%)	$p_{3.2} > 0,05$

Tỷ lệ biệt hóa từ tinh tử đang kéo dài thành tinh tử đã kéo dài là 55,56%, cho thấy vẫn còn nhiều yếu tố ảnh hưởng bất lợi đến quá trình biệt hóa của tinh tử [1].

3. Từ tinh tử đã kéo dài thành tinh trùng.

Bảng 3: Tỷ lệ biệt hóa tinh tử đã kéo dài thành tinh trùng.

	TINH TỬ ĐÃ KÉO DÀI (số ca, tỷ lệ %)		P
Thời điểm 0 giờ (1)	14/30 (46,67%)		
Thời điểm 24 giờ (2)	Tinh tử đã kéo dài	Tinh trùng	$p_{2.1} < 0,05$
	5/14 (35,71%)	9/14 (64,29%)	$p_{3.2} > 0,05$
	Tinh trùng	Tinh trùng	$p_{3.1} < 0,05$

Thời điểm 48 giờ (3)	5/14 (35,71%)	9/14 (64,29%)	$p_{3.2} > 0,05$
----------------------	---------------	---------------	------------------

Sau 24 giờ nuôi cấy, mức độ biệt hóa của tinh tử đã kéo dài thành tinh trùng là 64,29%. Cho dù tinh tử đã kéo dài sắp hoàn thiện thành tinh trùng, nhưng quá trình biệt hóa này cũng không phải dễ dàng, cho thấy ở mỗi giai đoạn đều có những ảnh hưởng quyết định và tác động của kỹ thuật lên quá trình nuôi cấy [1, 3].

Tuy nhiên, giải pháp nuôi cấy vẫn được nhiều tác giả trên thế giới lựa chọn, do các tinh tử sau nuôi cấy trưởng thành hơn, đặc biệt về vật chất di truyền và sắp xếp lại chất nhân. Do đó, các tinh tử sau nuôi cấy có khả năng thụ tinh cao hơn và phôi sau thụ tinh cũng phát triển tốt hơn.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu bước đầu 30 ca nuôi cấy tinh tử tại Trung tâm Công nghệ Phôi cho thấy: khả năng biệt hóa của tinh tử khá quan với tỷ lệ 57,15% tinh tử tròn biệt hóa thành tinh tử đang kéo dài; 55,56% tinh tử đang kéo dài biệt hóa thành tinh tử đã kéo dài và 64,29% tinh tử đã kéo dài biệt hóa thành tinh trùng.

Hiện nay, nuôi cấy tinh tử là giải pháp mới, chuyên sâu cho điều trị vô sinh nam, nhằm thu được những tinh trùng có khả năng thụ tinh cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Quán Anh và CS. Vô sinh nam giới. Bệnh học giới tính nam. Nhà xuất bản Y học. 2009, tr.253-324.
2. Mário Sousa *et al.* Development potential of human spermatogenic cells co-cultured with Sertoli cells. Human Reproduction. 2002, Vol 17, No 1, pp.161-172.
3. Tesarik *et al.* Differentiation of spermatogenic cells during in-vitro culture of testicular biopsy samples from patients with obstructive azoóporia: effect of recombinant follicle stimulating hormone. Human Reproduction. 1998, Vol 13 No 10, pp.2772-2781.
4. Tesarik *et al.* Human spermatogenesis in vitro: respective effects of follicle stimulating hormone and testosterone on meiosis, spermiogenesis, and Sertoli cell apoptosis. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 1998, Vol 83, No 12, pp.4467-4473.
5. Tesarik *et al.* Assisted reproduction with in-vitro-culture testicular spermatozoa in cases of severe germ cell apoptosis: a pilot study. Human Reproduction. 2001, Vol 16, No 12, pp.2640-2645.