ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA CAO CHIẾT TẢ QUY ẨM ĐỐI VỚI SỰ THAY ĐỔI TESTOSTERON TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Thái Dương, Nguyễn Phương Dung**

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: *Suy sinh dục nam là tình trạng cơ thể không sản xuất đủ testosteron. Bài thuốc Tả quy ẩm được dùng để điều trị các triệu chứng Thận âm hư như: Đau lưng, nóng trong người, tinh dịch ít, khó có con... Có thể liên quan đến tình trạng suy giảm testosteron. Đề tài này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc Tả quy ẩm đối với nồng độ testosteron trên chuột nhắt trắng.*

Đối tượng-Phương pháp nghiên cứu: *Cao chiết nước bài thuốc Tả quy ẩm. Thực nghiệm tiến hành trên chuột nhắt trắng đực bình thường và giảm năng sinh dục bằng phương pháp cắt bỏ tinh hoàn. Thời gian dùng thuốc là 15 ngày. Chỉ tiêu theo dõi: Nồng độ testosteron trong huyết tương, sự thay đổi của túi tinh-tiền liệt tuyến, trọng lượng cơ nâng hậu môn, thể trọng trước và sau khi dùng thuốc*

Kết quả: *Trên cơ địa chuột giảm năng sinh dục, cao nước Tả quy ẩm làm tăng nồng độ testosteron, trọng lượng túi tinh-tiền liệt tuyến, không làm thay đổi thể trọng và cơ nâng hậu môn. Trên cơ địa động vật bình thường, cao nước Tả quy ẩm làm tăng trọng lượng túi tinh-tiền liệt tuyến, không làm thay đổi nồng độ testosteron, trọng lượng tinh hoàn, trọng lượng cơ nâng hậu môn và thể trọng chuột trước và sau khi dùng thuốc.*

Kết luận: *Cao nước Tả quy ẩm có tác dụng hướng sinh dục nam trên cơ địa chuột bình thường và chuột giảm năng sinh dục.*

Từ khóa: *Giảm năng sinh dục, androgen.*

ABSTRACT

ASSESS EFFECT CHANGE TESTOSTERON LEVEL OF THE WATER EXTRACT "TA QUY AM" ON THE MICE

Nguyen Thai Duong, Nguyen Phuong Dung

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 67 - 72

Objectives: *Male hypogonadism is a condition in which the body is not producing enough of the testosteron hormon. The traditional medicine formula "TA QUY AM" is used treating symptoms of the kidney yin deficiency syndrome, such as: Backache, internal heat, less spermatic, infertility, according to modern medicine that caused by a deficiency testosteron. The study was designed to assess effect change testosteron level of this formula*

Methods: *The water extract of "TA QUY AM" formula was used. The normal mice and mice were castrated by removing the testicles and let stably for 15 days before treatment. An increase of the plasma testosteron levels, the weight of male sexual organs (testicle, seminal vesicle and prostate gland) was used as an index of androgenic effects. On the other hand, the weight of levator ani was used as an index of protein anabolic. The weight of the body was also reported after the experiment.*

Results: *The results revealed that testosteron content in castrated mice was lower than that in normal mice, suggesting for experimental sexual dysfunction. The formula "TA QUY AM" formula extract increased*

* Khoa Y học cổ truyền – ĐH Y Dược TP. HCM

Tác giả liên lạc: ThS. Nguyễn Thái Dương *ĐT:* 0907667790 *Email*: sunnynguyen810@yahoo.com.vn

testosteron levels, the weight of seminal vesicles and the weight of the prostate gland in castrated mice but did not change levator ani. In normal mice, this formula increased the weight of seminal vesicles and the weight of prostate gland, but did not change testosteron levels, the weight of levator ani and testicular. However, the weight of the body did not change as compared with control after 15 days administrating extracts.

Conclusion: *The formula "TA QUY AM" showed the androgen effects in normal and castrated groups.*

Keywords: *Castrated mice, androgen.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy sinh dục nam là tình trạng cơ thể không sản xuất đủ testosteron. Theo Hiệp hội niệu khoa châu Âu 2005, tỉ lệ nam giới từ 40-72 tuổi suy giảm sinh dục khởi phát muộn (gồm suy giảm nồng độ testosteron huyết thanh và ít nhất 3 triệu chứng về do suy giảm testosteron) là 2,1% [1]. Ở Việt Nam, tuy chưa có nghiên cứu dịch tễ về suy giảm sinh dục nam khởi phát muộn nhưng với khuynh hướng tăng dần tuổi thọ trung bình (hiện nay là 72,5 tuổi) thì vấn đề này rất đáng lưu ý[5].

Nguyên tắc điều trị chủ yếu là bổ sung testosteron. Tuy nhiên, testosteron tổng hợp có một số tác dụng phụ khi dùng dài ngày, chẳng hạn như tăng sản lành tính và ung thư tiền liệt tuyến[2]. Vì thế, thuốc nguồn gốc tự nhiên được quan tâm nghiên cứu trong và ngoài nước.

Tả quy ẩm là một cổ phương trong điều trị các triệu chứng Thận âm hư, như đau lưng, mỏi gối, nóng trong người, tinh dịch ít, khó có con[6]. Đây cũng là những dấu hiệu có thể gặp ở người suy giảm testosteron. Cho đến nay, chưa có kết quả nghiên cứu về tác dụng của bài thuốc Tả quy ẩm đối với nồng độ testosteron. Đề tài này được thực hiện để nhằm đánh giá ảnh hưởng của cao chiết từ bài thuốc Tả quy ẩm đối với nồng độ testosteron trên 2 mô hình chuột nhắt trắng bình thường và giảm năng sinh dục.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu nghiên cứu

Bài thuốc Tả quy ẩm gồm 6 vị thuốc: Thục địa, Hoài sơn, Sơn thù, Kỷ tử, Phục linh, Cam thảo, được kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn quy định tại Dược điển Việt Nam 4, do Đơn vị Dược, thuộc Cơ sở 3 - Bệnh viện Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh cung cấp. Mẫu dược liệu được lưu tại Bộ môn Bào chế Đông dược - Khoa Y học Cổ truyền- Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh.

Cao chiết Tả quy ẩm được bào chế bằng phương pháp sắc với nước 2 lần với tỷ lệ nước - dược liệu là 5 - 1. Dịch chiết được gộp chung và cô và sấy đến dạng cao mềm có độ ẩm 19,73%, saponin toàn phần là 9,10%.

Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực chủng *Swiss albino*, 5-6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 25 g ± 2 g được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang. Chuột được ổn định 1 tuần trước thực nghiệm. Chuột được nuôi bằng thực phẩm viên được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang và nước uống đầy đủ.

Thể tích cho uống mẫu thử hoặc tiêm phúc mạc là 10 ml/kg thể trọng chuột. Thời điểm cho thuốc là buổi sáng, trong khoảng 8-9 giờ.

Phương pháp nghiên cứu[4]

Chuột nhắt đực được gây mê bằng ether, dụng cụ giải phẫu được sát trùng bằng cồn. Cắt một đường dài khoảng 0,5 cm ở giữa bìu và kéo 2 tinh hoàn ra ngoài, dùng chỉ cột phần trên của tinh hoàn và cắt bỏ tinh hoàn. Khâu vết mổ bằng chỉ, sát trùng vết mổ bằng dung dịch cồn iod (Povidine). Chuột đã cắt tinh hoàn được để nghỉ 2 tuần trước khi làm thử nghiệm.

Những con chuột sau khi đã được cắt 2 tinh hoàn sẽ được xác định hàm lượng testosteron huyết tương sau 2 tuần theo quy trình bộ kit được cung cấp bởi hãng Human (Đức). Chọn thời điểm 2 tuần khi đó hàm lượng testosteron đo được giảm gần phân nửa so với bình thường (48,96%) đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% nhưng chưa giảm tới tối thiểu. Chọn những con

chuột có hàm lượng testosteron giảm từ 40%-60% so với nồng độ testosteron của nhóm chuột bình thường (chứng sinh lý) thành nhóm chuột giảm năng sinh dục

Mỗi mẫu cao chiết được thực hiện ở 2 liều, trên 2 đối tượng là chuột nhắt trắng đực bình thường và chuột nhắt trắng đực giảm năng sinh dục. Mô hình bố trí thử nghiệm như sau:

Lô 1: Lô chứng (uống nước cất), liều 10 ml/kg

Lô 2: Lô thử 1 (uống cao nước Tả quy ẩm), liều 0,8 g/kg chuột

Lô 3: Lô thử 2 (uống cao nước Tả quy ẩm), liều 1,6 g/kg

Lô 4: Lô đối chiếu (uống Testocaps) liều 0,002 g/kg (~ testosteron 0,002 g/kg)

Mỗi lô 10 con và được cho uống với thể tích là 10 ml/kg thể trọng chuột. Thời gian cho uống là 15 ngày vào buổi sáng trước khi cho ăn. Xác định các chỉ tiêu:

- Nồng độ testosteron trong huyết tương được xác định bằng phương pháp ELISA (theo quy trình của bộ kit được cung cấp bởi hãng Human, Đức)

- Trọng lượng tinh hoàn, túi tinh - tuyến tiền liệt (mg%: mg/100g thể trọng chuột).

- Trọng lượng cơ nâng hậu môn (mg%: mg/100g thể trọng chuột)

mg% = (trọng lượng thực của cơ quan / trọng lượng cơ thể) x 100

(Trọng lượng thực của các cơ quan khác biệt nhiều đối với những cá thể có thể trọng tăng hoặc giảm trong cùng một lô và giữa các lô thử nghiệm. Để tránh sai số khi so sánh thống kê, đơn vị mg% được chọn để tính trọng lượng tương đối cơ quan trên 100g trọng lượng cơ thể)

- Sự thay đổi trọng lượng cơ thể trước và sau khi dùng thuốc thử nghiệm

Các số liệu được biểu thị bằng dưới dạng M ± SEM (standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA và Student-Newman-Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng.

KẾT QUẢ

Ảnh hưởng của cao Tả quy ẩm trên chuột đực giảm năng sinh dục

Ảnh hưởng trên nồng độ testosteron

***Bảng 1**. Nồng độ testosteron của chuột nhắt trắng (ng/ml) sau dùng thuốc*

Lô	Số chuột	Liều g/kg	Testosteron (ng/ml)
Chứng BT	10	-	0,507 ± 0,039
Chứng	10	-	0,290 ± 0,028 #
Cao Tả quy ẩm	10	0,8	0,459 ± 0,009*
	10	1,6	0,441 ± 0,006*
Testocaps	10	0,002	1,008 ± 0,042*

*# p < 0,05 so với chứng bình thường *p < 0,05 so với chứng cùng nhóm*

Nhận xét: Lô chứng cắt 2 tinh hoàn có nồng độ testosteron giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bình thường ($p<0,001$) chứng tỏ mô hình gây giảm năng sinh dục đạt. Ở lô chuột uống Testocaps (0,002 g/kg) testosteron tăng đạt ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với lô chứng cắt 2 tinh hoàn. Lô uống cao Tả quy ẩm (0,8 g/kg và 1,6 g/kg) có nồng độ testosteron tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng cắt 2 tinh hoàn ($p<0,05$).

Như vậy, cao Tả quy ẩm có tác dụng làm tăng nồng độ testosteron huyết tương trên chuột đực giảm năng sinh dục.

***Bảng 2**. Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt (mg%) của chuột nhắt trắng giảm năng sinh dục*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Túi tinh-tuyến tiền liệt (mg%)
Chứng	10	-	38,32 ± 3,35
Cao Tả quy ẩm	10	0,8	39,08 ± 3,78
	10	1,6	70,57 ± 11,44*
Testocaps	10	0,002	150,40 ± 20,55*

**p < 0,05 so với chứng cùng nhóm*

Nhận xét: Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột uống cao Tả quy ẩm (liều 0,8 g/kg) không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng cắt 2 tinh hoàn. Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt ở lô uống cao Tả quy ẩm liều 1,6

g/kg tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng cắt 2 tinh hoàn (p < 0,05).

Ảnh hưởng trên trọng lượng cơ nâng hậu môn

***Bảng 3**. Trọng lượng cơ nâng hậu môn của chuột nhắt trắng giảm năng sinh dục*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Cơ nâng hậu môn (mg%)
Chứng	10	-	85,32 ± 7,59
Cao Tả quy ẩm	10	0,8	78,62 ± 6,25
	10	1,6	87,09 ± 8,61
Testocaps	10	0,002	266,99 ± 16,88*

**p < 0,05 so với chứng cùng nhóm*

Nhận xét:

Trọng lượng cơ nâng hậu môn của chuột nhắt đực giảm năng sinh dục uống cao Tả quy ẩm liều 0,8 g/kg, liều 1,6 g/kg không khác biệt so với lô chứng (p < 0,05).

Ảnh hưởng trên thể trọng

***Bảng 4.** Thể trọng của lô chuột giảm năng sinh dục*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Trước thử nghiệm	Sau thử nghiệm
Chứng	10	-	31,10 ± 0,85	32,70 ± 0,90
Cao Tả quy ẩm	10	0,8	29,40 ± 0,88	35,10 ± 1,30
	10	1,6	29,60 ± 0,58	35,30 ± 0,50
Testocaps	10	0,002	29,50 ± 0,48	34,50 ± 1,34

Nhận xét: Thể trọng chuột ở các lô sau thử nghiệm không thay đổi so với trước thử nghiệm. Thể trọng chuột ở các lô uống cao Tả quy ẩm liều 0,8 g/kg, liều 1,6 g/kg không khác biệt so với lô chứng trên cơ địa động vật giảm năng sinh dục (p < 0,05).

Tác dụng của cao nước Tả quy ẩm trên chuột đực bình thường

Nồng độ testosteron huyết tương

***Bảng 5.** Nồng độ testosteron ở các lô chuột nhắt trắng đực bình thường*

Lô	Số chuột	Liều g/kg	Testosteron (ng/ml)
Chứng	10	-	0,507 ± 0,039
Cao Tả quy ẩm	5	0,8	0,596 ± 0,081
	5	1,6	0,577 ± 0,066
Testocaps	10	0,002	1,575 ± 0,145*

Nhận xét: Lô uống Testocaps liều 0,002 g/kg có nồng độ testosteron tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng (p < 0,05). Lô uống cao Tả quy ẩm liều 0,8 g/kg và 1,6 g/kg có nồng độ testosteron không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bình thường (p < 0,05). Như vậy, cao Tả quy ẩm không làm tăng nồng độ testosteron trong huyết tương của chuột bình thường ở liều 0,8 và 1,6 g/kg.

Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt

***Bảng 6**. Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột nhắt trắng đực bình thường*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Túi tinh-tuyến tiền liệt (mg%)
Chứng	10	-	274,29 ± 26,73
Cao Tả quy ẩm	5	0,8	502,54 ± 67,47*
	5	1,6	567,02 ± 90,17*
Testocaps	10	0,002	370,00 ± 27,19*

**P < 0,05 so với chứng cùng nhóm*

Nhận xét: Trọng lượng túi tinh - tuyến tiền liệt của lô chuột uống cao Tả quy ẩm cả 2 liều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng (p < 0,05). Như vậy, cao Tả quy ẩm làm tăng trọng lượng túi tinh - tuyến tiền liệt trên cơ địa động vật bình thường

Trọng lượng tinh hoàn

***Bảng 7.** Trọng lượng tinh hoàn của chuột nhắt trắng đực bình thường*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Tinh hoàn (mg%)
Chứng	10	-	247,46 ± 14,83
Cao Tả quy ẩm	5	0,8	304,83 ± 46,39
	5	1,6	318,53 ± 38,38
Testocaps	10	0,002	486,37 ± 24,66*

Nhận xét: Trọng lượng tinh hoàn ở lô uống cao Tả quy ẩm cả 2 liều 0,8 và 1,6 g/kg không thay đổi so với lô chứng (p < 0,05).

Trọng lượng cơ nâng hậu môn

***Bảng 8.** Trọng lượng cơ nâng hậu môn ở các lô chuột nhắt đực bình thường*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Cơ nâng hậu môn (mg%)
Chứng	10	-	269,17 ± 17,86
Cao Tả quy ẩm	5	0,8	264,99 ± 18,69
	5	1,6	282,17 ± 26,71
Testocaps	10	0,002	488,56 ± 28,28*

**p < 0,05 so với chứng cùng nhóm*

Nhận xét: Trọng lượng cơ nâng hậu môn của các lô uống cao Tả quy ẩm liều 0,8 g/kg, liều 1,6 g/kg không có sự khác biệt so với lô chứng trên cơ địa động vật bình thường ($p < 0,05$).

Thể trọng

Bảng 9. *Thể trọng của lô chuột bình thường trước và sau thử nghiệm*

Lô	Số chuột	Liều (g/kg)	Trước thử nghiệm	Sau thử nghiệm
Chứng	10	-	30,70 ± 0,70	34,60 ± 0,58
Cao Tả quy ẩm	5	0,8	30,00 ± 0,89	32,60 ± 0,87
	5	1,6	28,20 ± 1,46	32,40 ± 2,01
Testocaps	10	0,002	27,00 ± 0,52	32,30 ± 1,20

Nhận xét: Thể trọng chuột ở các lô sau thử nghiệm không thay đổi so với trước thử nghiệm. Thể trọng chuột ở các lô uống cao Tả quy ẩm liều 0,8 g/kg, liều 1,6 g/kg không khác biệt so với lô chứng trên cơ địa động vật bình thường.

BÀN LUẬN

Trên cơ địa chuột giảm năng sinh dục

Cao nước Tả quy ẩm thể hiện tác dụng làm tăng testosteron trong huyết tương ở liều 0,8 và 1,6g/kg, tăng trọng lượng cơ quan sinh dục đực ở liều 1,6g/kg.

Ở chuột giảm năng sinh dục, sự tổng hợp testosteron chủ yếu diễn ra theo con đường thượng thận. Tại tuyến thượng thận, cholesterol chuyển hóa thành pregnenolon, 17-OH-pregnenolon, dehydroepiandosteron, androstenediol và androstenedion cuối cùng là testosteron. Tại tế bào đích, testosteron chuyển thành dạng hoạt hóa dihydrotestosteron có tác dụng mạnh hơn testosteron trên tiền liệt tuyến và túi tinh. Cao nước Tả quy ẩm có chứa chất diosgenin trong Hoài sơn có cấu trúc hóa học tương tự như dehydroepiandosteron do đó có thể kích thích sản xuất testosteron theo con đường này[3]. Cao nước Tả quy ẩm không làm thay đổi hàm lượng testosteron trong huyết tương nhưng lại làm tăng trọng lượng cơ quan sinh dục (túi tinh, tuyến tiền liệt). Điều này có thể là do trong cao nước Tả quy ẩm chứa diosgenin của Hoài sơn có cấu trúc tương tự DHEA đã tham gia vào con đường chuyển hóa testosteron và DHT giúp tăng khối lượng túi tinh và tiền liệt tuyến[3].

Trên cơ địa chuột bình thường

Cao nước Tả quy ẩm không làm thay đổi testosteron huyết tương nhưng lại làm tăng trọng lượng cơ quan sinh dục (túi tinh, tuyến tiền liệt). Điều này có thể do thành phần diosgenin trong Hoài sơn có cấu trúc tương tự DHEA đã tham gia vào con đường chuyển hóa testosteron và DHT giúp tăng khối lượng túi tinh và tiền liệt tuyến[3].

Hướng tác dụng đồng hóa

Cao nước Tả quy ẩm không làm tăng trọng lượng cơ nâng hậu môn và thể trọng chuột ở chuột bình thường và giảm năng sinh dục. Có thể là do cao nước Tả quy ẩm chỉ có tác dụng lên những mô đích nhạy cảm androgen.

Theo Y học cổ truyền bài thuốc Tả quy ẩm chủ yếu dùng để điều trị các bệnh nhân suy sinh dục nam bệnh cảnh Thận âm hư[6], có liên quan đến khả năng làm tăng nồng độ testosteron trên cơ địa chuột giảm năng sinh dục mà không ảnh hưởng đến nồng độ testosteron trên chuột bình thường.

KẾT LUẬN

Cao nước Tả quy ẩm thể hiện tác dụng kiểu androgen trên chuột đực bình thường và chuột đực giảm năng sinh dục ở 2 liều thử nghiệm là 0,8g/kg và 1,6g/kg. Làm tăng nồng độ testosteron trên chuột cắt 2 tinh hoàn, nhưng không ảnh hưởng đến nồng độ testosteron của chuột đực bình thường.

Cần nghiên cứu thêm các tác dụng dược lý khác của cao nước Tả quy ẩm, như: khả năng thay đổi chất lượng và số lượng tinh trùng, khả năng sinh sản... Nghiên cứu dạng bào chế và tiêu chuẩn chất lượng chế phẩm phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nieschlag E (2005). "Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males". *Eur J Endocrinol;* 159(5):507–514.
2. Pearl JA (2013). *Testosteron Supplementation does not Worsen Lower Urinary Tract Symptoms*, pp. 1828-33.
3. Sato K, Fujita S, Iemitsu.M. (2014). "Acute administration of diosgenin or dioscorea improves hyperglycemia with increases muscular steroidogenesis in STZ- induced type 1 diabetic rats" *J Steroid Biochem Mol Biol.*;143:152-9.
4. Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Mai Thanh Tâm, Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Công Luận (2012). "Nghiên cứu tác dụng hướng sinh dục nam của Ba kích (*Morinda officinalis* How)" *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, tập 16, số 1, tr.192-198.
5. Trần Quán Anh (2002). *Bệnh học giới tính nam.* Nhà xuất bản Y Học, tr.64-69, 193-232, 7-72.
6. Trần Văn Kỳ (2000). *250 bài thuốc y học cổ truyền chọn lọc.* Nhà xuất bản Thanh niên, tr.239.

Ngày nhận bài báo: *27/02/2015*
Ngày phản biện nhận xét bài báo: *18/05/2015*
Ngày bài báo được đăng: *08/09/2015*