

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ANDROGEN CỦA BÀI THUỐC “BỔ THẬN SINH TINH THANG” TRÊN CHUỘT CỐNG ĐỰC CHƯA TRƯỞNG THÀNH

Vũ Trí Linh^{1*}, Nguyễn Thanh Hà Tuấn¹, Nguyễn Hoàng Ngân^{1,**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu hoạt tính androgen của dịch chiết Bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” trên chuột cống đực chưa trưởng thành. **Phương pháp:** Chuột cống trắng đực 8 tuần tuổi, uống dịch chiết Bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” liều 12,6g/kg/ngày và 25,2g/kg/ngày, hàng ngày trong 28 ngày. Đánh giá cân nặng chuột, cân nặng các cơ quan sinh dục liên quan tới hormon androgen và nồng độ testosterone trong máu chuột. **Kết quả:** Dịch chiết bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” có tác dụng làm tăng nồng độ testosterone máu, tăng khối lượng túi tinh và cơ nâng hậu môn-hành hang ($p < 0,05$ so với lô chứng trắng). **Kết luận:** Bài thuốc Bổ thận sinh tinh thang liều 12,6g/kg/ngày và 25,2g/kg/ngày, uống trong 28 ngày, có hoạt tính androgen khi đánh giá trên chuột cống đực chưa trưởng.

Từ khóa: Bổ thận sinh tinh thang, androgen, chuột cống đực chưa trưởng thành.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn chức năng sinh dục nam một tình trạng bệnh lý thường gặp ở nam giới với tỉ lệ ngày càng tăng lên ở Việt Nam cũng như trên thế giới, với các biểu hiện bao gồm rối loạn cương dương, rối loạn xuất tinh, giảm khoái cảm và rối loạn ham muốn tình dục, có thể kèm theo mất khả năng xiù của dương vật [3] [4]. Y học cổ truyền đã có nhiều nghiên cứu dùng các bài thuốc đông y để điều trị rối loạn chức năng sinh dục nam và thu được các kết quả khả quan [2]. Bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” với các dược liệu bổ thận dương, sinh tinh, bổ khí huyết được sử dụng điều trị cho các bệnh nhân suy giảm sinh dục nam, rối loạn cương dương tại khoa đông y, bệnh viện 103 bước đầu cho thấy có hiệu quả tốt. Để có cơ sở khoa học cho việc sử dụng rộng rãi bài thuốc trong điều trị, cần tiến hành các nghiên cứu về tính an toàn và tác dụng của bài thuốc. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá hoạt tính androgen của

dịch chiết Bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” trên chuột cống đực chưa trưởng thành.

2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu, đối tượng và thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu (thuốc thử): là dịch chiết bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang”.

- Công thức bài thuốc: Nhân sâm (*Radix Ginseng*): 20g; Dâm dương hoắc (*Herba Epimedii*): 10g; Ba kích (*Radix Morindae Officinalis*): 15g; Tỏa dương (*Herba Cynomorii*): 15g; Bạch tật lê (*Fructus Tribuli*): 15g; Sơn thù du (*Fructus Corni*): 10g. Các vị thuốc do khoa Dược – Bệnh viện 103 cung cấp, đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [1]; sắc đóng gói tại khoa Y học cổ truyền – BV 103 bằng hệ thống máy sắc thuốc và đóng gói tự động của Hàn Quốc.

- Liều dùng được tính theo g dược liệu khô. Liều dự kiến trên người là 90g/người (50kg)/ngày, tương đương 1,8g/kg/ngày. Liều qui đổi trên chuột cống trắng (hệ số 7) là 12,6 g/kg/ngày.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng Wistar, 7 tuần tuổi, số lượng 40 con, do Ban động vật Học viện Quân y cấp, nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn động vật nghiên cứu.

¹ Học viện Quân y

* Tác giả thực hiện chính:

Vũ Trí Linh

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Nguyễn Hoàng Ngân

Email: nguyenhoangngan@yahoo.com.vn

Ngày tiếp nhận: 1/8/2019

Ngày phản biện: 6/9/2019

Ngày chấp nhận đăng: 22/9/2019

2.1.3. Thiết bị, hóa chất: Kim chuyên dụng cho chuột uống thuốc (Nhật); Cân phân tích 10^{-4} (Sartorius, Đức); Kit định lượng testosterone trong máu; Bộ dụng cụ mổ chuột.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp được mô tả bởi Pierre Watcho và cs (2017) [5], có sửa đổi.

Chuột cống đực 7 tuần tuổi, được nuôi ổn định 7 ngày trong môi trường phòng thí nghiệm. Sau 1 tuần nuôi ổn định, chuột đạt 8 tuần tuổi, và được chia chuột ngẫu nhiên vào 4 lô, mỗi lô 10 con, như sau:

+ Lô 1 (chứng trắng): Uống nước cất, với thể tích 10 ml/kg/ngày

+ Lô 2 (tham chiếu): Tiêm dưới da đuôi dung dịch testosterone với liều 0,4 mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (thuốc thử liều 1): Uống bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” liều 12,6g/kg/ngày.

+ Lô 4 (thuốc thử liều 2): Uống bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” liều 25,2g/kg/ngày.

Chuột của lô nghiên cứu được cho uống thuốc thử, chuột thuộc lô chứng được uống nước cất mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, trong 28 ngày. Tại thời điểm 24 giờ sau khi uống liều thuốc cuối cùng (ngày 29), cân trọng lượng chuột. Giết chuột, lấy máu làm xét nghiệm nồng độ testosterone trong máu (nmol/l). Bóc tách các cơ quan liên quan tới hormone sinh dục androgen, bao gồm: tinh hoàn, túi tinh, tuyến cowper, cơ nâng hậu môn-hành hang, tuyến tiền liệt; sau đó cân ngay trên cân phân tích 10^{-4} ; riêng túi tinh được ép nhẹ cho hết tinh dịch rồi mới cân. Kết quả được tính theo trọng lượng cơ quan

sinh dục (mg)/100 g trọng lượng cơ thể chuột. So sánh giữa các lô với nhau tại cùng một thời điểm, so sánh trước và sau điều trị của từng lô.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học bằng phần mềm SPSS 22.0. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” tới thể trọng chuột

Trong quá trình nghiên cứu, chuột ở các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, mắt sáng, lông mượt, phân khô, nước tiểu bình thường. Chuột được cân tại các thời điểm trước khi cho uống thuốc và 28 ngày sau cho uống thuốc. Kết quả về cân nặng chuột nghiên cứu được thể hiện ở bảng 3.1. So sánh trong cùng lô, sau 28 ngày thể trọng chuột ở tất cả các lô đều tăng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh giữa các lô tại cùng một thời điểm, thể trọng chuột ở các lô là tương đương ($p > 0,05$).

3.3.2. Tác dụng của bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” lên khối lượng các cơ quan sinh dục chuột cống trắng đực và nồng độ testosterone.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.2 và 3.3. So với lô chứng sinh lý (lô 1), khối lượng túi tinh và cơ nâng hậu môn-hành hang của chuột ở 2 lô dùng bài thuốc “Bổ thận sinh tinh thang” tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 3.1. Cân nặng của chuột trước và sau 28 ngày uống thuốc

Lô chuột (n = 10)	Cân nặng chuột (g, $\bar{X} \pm SD$)		$P_{\text{trước-sau}}$
	Trước uống thuốc (a)	Sau uống thuốc (b)	
Lô 1	107,40 $\pm$ 4,70	147,40 $\pm$ 3,63	$p_{a-b} < 0,01$
Lô 2	106,60 $\pm$ 3,89	147,10 $\pm$ 4,65	$p_{a-b} < 0,01$
Lô 3	107,10 $\pm$ 3,38	148,30 $\pm$ 3,50	$p_{a-b} < 0,01$
Lô 4	106,40 $\pm$ 5,02	148,60 $\pm$ 3,69	$p_{a-b} < 0,01$
P giữa các lô	$p_{2,3,4-1} > 0,05$, $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-2} > 0,05$		-

Bảng 3.2. Khối lượng của các cơ quan sinh dục của chuột (n = 10)

Lô nghiên cứu		Khối lượng các cơ quan sinh dục của chuột (g/100g thể trọng)					
		Tinh hoàn	Mào tinh hoàn	Túi tinh	Tuyến tiền liệt	Tuyến cowper	Cơ nang hậu môn
Lô chứng (1)	$\bar{X}$	0,664 ±	0,248 ±	0,228 ±	0,083 ±	0,029 ±	0,301 ±
	±	0,032	0,041	0,046	0,026	0,006	0,032
	SD						
Testosteron 0,4 mg/kg (2)	$\bar{X}$	0,662 ±	0,250 ±	0,295 ±	0,111 ±	0,031 ±	0,355 ±
	±	0,027	0,039	0,073	0,025	0,008	0,052
	SD						
	p ₂₋₁	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05
Thuốc thử 12,6g/kg (3)	$\bar{X}$	0,671±	0,252 ±	0,291 ±	0,103 ±	0,030 ±	0,342 ±
	±	0,044	0,040	0,082	0,022	0,006	0,048
	SD						
	p ₃₋₁	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
	p ₃₋₂	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Thuốc thử 25,2g/kg (4)	$\bar{X}$	0,675 ±	0,253 ±	0,299 ±	0,101 ±	0,029 ±	0,350 ±
	±	0,049	0,034	0,081	0,014	0,008	0,046
	SD						
	p ₄₋₁	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
	p ₄₋₂	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	p ₄₋₃	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 3.3. Nồng độ testosterone huyết tương (ng/ml) của chuột trước và sau 28 ngày uống thuốc (n = 10)

Lô chuột	Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc	% tăng so với chứng	% tăng so với trước	p _{trước-sau}
Lô chứng (1)	$3,19 \pm 0,62$	$3,18 \pm 0,59$	-	-	> 0,05
Testosteron 0,4 mg/kg (2)	$3,17 \pm 0,40$	$4,85 \pm 1,30$	52,36%	52,65%	< 0,01
Thuốc thử 12,6g/kg (3)	$3,18 \pm 0,52$	$3,68 \pm 0,42$	15,82%	15,89%	> 0,05
Thuốc thử 25,2g/kg (4)	$3,20 \pm 0,55$	$3,75 \pm 0,45$	17,96%	17,15%	< 0,05
p _{giữa các lô}	> 0,05	p ₂₋₁ < 0,01; p _{3,4-1} < 0,05; p _{3,4-2} < 0,05; p ₃₋₄ > 0,05		-	-

Lô dùng testosterone ngoài tăng khối lượng túi tinh và cơ nang hậu môn-hành hang, trọng lượng tuyến tiền liệt cũng tăng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý (p < 0,05). So sánh giữa 2 lô dùng thuốc “Bổ thận

sinh tinh thang” và lô dùng testosterone, khối lượng các cơ quan sinh dục khác biệt không có ý nghĩa thống kê (bảng 3.2).

So sánh giữa các lô ở cùng thời điểm trước khi dùng thuốc, không có sự khác biệt

về nồng độ testosterone giữa các lô ($p > 0,05$). So sánh giữa các lô ở cùng thời điểm sau 10 ngày dùng thuốc: Chuột ở lô tiêm testosterone có nồng độ testosterone máu tăng cao hơn so với lô chứng ($p < 0,01$), đồng thời cũng như so với 2 lô uống thuốc Bổ thận sinh tinh thang ($p < 0,05$); Chuột ở 2 lô uống thuốc Bổ thận sinh tinh thang liều 12,6g/kg và 25,2g/kg có nồng độ testosterone tăng cao hơn so với lô chứng là 15,82% và 17,96%, tương ứng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; Chuột uống thuốc Bổ thận sinh tinh thang ở lô liều cao (25,2g/kg) có nồng độ testosterone cao hơn so với ở lô liều thấp (12,6g/kg), tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). So sánh trong từng lô giữa thời điểm trước và sau dùng thuốc: Ở lô chứng không có sự biến đổi về nồng độ testosterone giữa trước và sau dùng thuốc ($p > 0,05$); Ở lô tiêm testosterone, nồng độ testosterone sau dùng thuốc tăng 52,65%, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; Ở 2 lô uống thuốc Bổ thận sinh tinh thang liều 12,6g/kg và 25,2g/kg, nồng độ testosterone tăng 15,89% và 17,15%, tương ứng, sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (bảng 3.3).

4. BÀN LUẬN

Mô hình đánh giá chế phẩm có tác dụng tương tự androgen (gọi là hoạt tính androgen) dựa trên việc so sánh khối lượng tương đối các cơ quan sinh dục phụ được Hershberger mô tả năm 1953, là mô hình sàng lọc được dùng phổ biến để chứng minh hoạt tính androgen của thuốc. Nghiệm pháp Hershberger sử dụng chuột cống đực non thiếu theo OECD 441 [6] hoặc chuột cống đực non không thiếu theo OECD 115 [7], với thời gian tiến hành cho chuột uống thuốc trong 10 ngày. Vì là một thử nghiệm sàng lọc đánh giá nhanh các chế phẩm có hoạt tính androgen, nghiệm pháp thường ưu tiên sử dụng trên chuột non thiếu để loại bỏ tình hoàn tức là loại bỏ được vai trò của testosterone nội sinh và loại bỏ cơ chế feedback của trục vùng dưới đồi - tuyến yên - tinh hoàn ngay từ khi các cơ quan sinh dục phụ chưa phát triển đầy đủ; từ

đó làm tăng độ nhạy và độ chính xác của nghiệm pháp, cho phép phát hiện được cả những chế phẩm có hoạt tính androgen yếu. Tuy nhiên, trên mô hình chuột không thiếu cho phép xác định được hoạt tính androgen ở một cơ thể chuột hoàn chỉnh, với sự có mặt của tinh hoàn (cơ quan sản sinh testosterone nội sinh), và cả cơ chế feedback của trục vùng dưới đồi - tuyến yên - tinh hoàn, sát thực với thực tế khi sử dụng các thuốc. Thay vì cho chuột uống thuốc trong thời gian ngắn 10 ngày, việc thiết kế cho chuột uống trong thời gian dài hơn [5] vừa làm tăng độ chính xác của mô hình, vừa gần với thực tế về thời gian sử dụng của các thuốc từ thảo dược.

Các cơ quan nghiên cứu bao gồm tinh hoàn, mào tinh hoàn, túi tinh, tuyến tiền liệt, tuyến Cowper, cơ nâng hậu môn - hành hang. Đây là các cơ quan có sự phát triển phụ thuộc nhiều vào hoạt động của androgen. Theo hướng dẫn của OECD, khi khối lượng của ít nhất hai trong số các cơ quan trên tăng lên có ý nghĩa thống kê so với các lô chuột không dùng thuốc thì thuốc được coi là có hoạt tính androgen [6, 7]. Dịch chiết "Bổ thận sinh tinh thang" làm tăng khối lượng túi tinh và cơ nâng hậu môn-hành hang ($p < 0,05$), thể hiện hoạt tính androgen trong mô hình nghiên cứu. Thuốc tham chiếu Testosterone 0,4 mg/kg ngoài làm tăng khối lượng túi tinh và cơ nâng hậu môn-hành hang, còn làm tăng khối lượng tuyến tiền liệt ($p < 0,05$). Tác dụng làm tăng tuyến tiền liệt được xem là một trong những tác dụng phụ trong liệu pháp điều trị bằng testosterone. Dịch chiết "Bổ thận sinh tinh thang" thể hiện được hoạt tính androgen làm tăng khối lượng túi tinh và cơ nâng hậu môn-hành hang, đồng thời làm tăng nồng độ testosterone máu, tương đương với thuốc tham chiếu testosterone, nhưng lại không làm tăng khối lượng tiền liệt tuyến. Đây có thể xem như một ưu điểm của bài thuốc nghiên cứu so với thuốc tham chiếu testosterone.

5. KẾT LUẬN

Từ các kết quả thu được trên thực nghiệm, chúng tôi kết luận: Bài thuốc Bổ thận sinh tinh thang thể hiện hoạt tính androgen

khi cho chuột cống đực chưa trưởng thành uống liều 12,6g/kg/ngày và 25,2g/kg/ngày trong 28 ngày, làm tăng nồng độ Testosterone trong máu, tăng khối lượng túi tinh và cơ nâng hậu môn ($p < 0,05$ so với lô chứng không dùng thuốc).

Lời cảm ơn

Chúng tôi chân thành cảm ơn Bộ môn Dược lý, Ban Cung cấp động vật thực nghiệm (Học viện Quân y) đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2017), Dược điển Việt Nam V, NXB Y học.
2. Trần Quốc Bảo (2012), Bệnh học Y học cổ truyền dùng cho sau đại học. NXB QĐND.
3. Trần Quán Anh, Nguyễn Bửu Triều (2012), Bệnh học giới tính nam. Nhà xuất bản Y học.

SUMMARY

ANDROGENIC ACTIVITY OF “BO THAN SINH TINH THANG” REMEDY EXTRACT ON IMMATURE MALE RAT

Vu Tri Linh, Nguyen Ha Thanh Tuan, Nguyen Hoang Ngan

Military Medical University

Objective: To study the androgenic activity of “Bo than sinh tinh thang” remedy extract on immature male rats. **Method:** 8-week-old male Wistar rats, oral “Bo than sinh tinh thang” remedy extract dose of 12.6g/kg/day and 25.2g/kg/day, daily for 28 days. Evaluate weight of rats, weight of sexual organs involved in androgen hormones and testosterone levels in blood of rats. **Results:** The extract of “Bo than sinh tinh thang” remedy had the effect of increasing blood testosterone levels, increasing the weight of seminal vesicles and levator ani-bulbocavernosus muscle ($p < 0.05$ compared to control group). **Conclusion:** “Bo than sinh tinh thang” remedy dose of 12.6g/kg/day and 25.2g/kg/day, oral during 28 days, showed androgenic activity when evaluated on immature male rats.

Keywords: Bo than sinh tinh thang, androgen, immature male rats.

4. Fouad R, Vivien K, Koussa KT et al. (2001). Male Sexual Function and Its Disorders: Physiology, Pathophysiology, Clinical Investigation, and Treatment. Endocrine Reviews, 22(3): 342-388.
5. Watcho P, Watio HM, Wankeu-Nya M et al (2017). Androgenic effects of aqueous and methanolic extracts of Ficus asperifolia in male Wistar rats. BMC Complementary and Alternative Medicine 17:42.
6. OECD 441 (2006). OECD guidelines for the testing of chemicals: Hershberger Bioassay in Rats: A Short-term Screening Assay for (Anti) Androgenic Properties.
7. OECD 115 (2009). OECD guidelines for the testing of chemical: Hershberger Bioassay in Rats: A Short – term Screening Assay for (Anti) Androgenic Properties.