

TÁC DỤNG PHỤC HỒI CỦA TD0014 TRÊN CHUỘT CỐNG TRẮNG BỊ GÂY SUY GIẢM SINH SẢN BẰNG NATRI VALPROAT

Mai Phương Thanh^{1,✉}, Phạm Thị Vân Anh¹, Nguyễn Trọng Thông¹
Nguyễn Thị Hương Liên²

¹Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội

²Công ty Cổ phần Sao Thái Dương

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng phục hồi của chế phẩm TD0014 trên chuột cống đực trưởng thành bị gây suy giảm sinh sản bằng uống natri valproat liều 500 mg/kg/ngày liên tục trong 7 tuần. Sau thời gian gây mô hình, chuột cống đực được uống TD0014 liều 1,8 g được liều/kg/ngày và liều 5,4 g được liều/kg/ngày trong 10 ngày liên tiếp. Trọng lượng các cơ quan sinh dục đực, nồng độ testosterone huyết thanh, số lượng và chất lượng tinh trùng, và hình ảnh mô học tinh hoàn là các chỉ số được sử dụng để đánh giá hiệu quả của TD0014. Các số liệu nghiên cứu cho thấy, TD0014 ở cả hai mức liều đều thể hiện tác dụng đẩy nhanh sự phục hồi trọng lượng các cơ quan sinh dục, tăng nồng độ testosterone huyết thanh, cải thiện cả số lượng và chất lượng tinh trùng, giảm mức độ tổn thương trên hình ảnh mô học tinh hoàn. TD0014 liều 5,4 g được liều/kg/ngày thể hiện tác dụng phục hồi rõ rệt hơn liều 1,8 g được liều/kg/ngày. Kết quả nghiên cứu trên đã chỉ ra rằng, TD0014 có tác dụng phục hồi trên mô hình gây suy giảm sinh sản bằng natri valproat, với tác dụng mạnh hơn ở mức liều 5,4 g được liều/kg/ngày so với mức liều 1,8 g được liều/kg/ngày.

Từ khóa: TD0014, natri valproat, chuột cống

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy sinh dục ở nam giới là tình trạng cơ thể không sản xuất đủ lượng testosterone, hormon đóng vai trò “chìa khóa” trong sự sinh trưởng và phát triển các đặc tính sinh dục nam ở tuổi dậy thì, hoặc giảm khả năng sản xuất tinh trùng hoặc cả hai.^{1,2} Suy sinh dục có thể làm giảm đáng kể chất lượng cuộc sống, ảnh hưởng bất lợi lên chức năng của nhiều hệ cơ quan khác nhau,^{1,3} và là một trong những nguyên nhân gây nên tình trạng vô sinh ở nam giới. Liệu pháp testosterone thay thế được coi là một trong

những biện pháp điều trị chính đối với nam giới suy giảm sinh dục nhằm cải thiện các triệu chứng của bệnh, giúp nâng cao chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân.^{1,3} Tuy nhiên, trước khi quyết định sử dụng testosterone, cần cân nhắc đến các tác dụng không mong muốn của thuốc. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra mối liên quan giữa liệu pháp testosterone thay thế và ung thư tuyến tiền liệt, phì đại lành tính tuyến tiền liệt, đa hồng cầu và hiện tượng ngưng thở khi ngủ do tắc nghẽn.⁴ Vì vậy, hiện nay, một xu hướng rất phổ biến ở Việt Nam cũng như trên thế giới là phát hiện và nghiên cứu các thuốc điều trị suy sinh dục nam có nguồn gốc từ dược liệu. Theo y học cổ truyền (YHCT) có nhiều dược liệu được sử dụng rộng rãi để điều trị suy sinh dục nam như nhục thung dung, ba kích, bá

Tác giả liên hệ: Mai Phương Thanh,

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: maiphuongthanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 11/12/2019

Ngày được chấp nhận: 22/02/2020

bệnh, nhân sâm, cá ngựa, v.v...⁵

Sản phẩm TD0014 là sự phối hợp của 33 vị dược liệu, trong đó có một số thành phần đã được nghiên cứu và dùng để điều trị suy sinh dục nam: nhục thung dung, ba kích, bá bệnh, nhân sâm.... Trên các nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trong 90 ngày, TD0014 thể hiện là một bài thuốc có tính an toàn. Chúng tôi cũng đã tiến hành đánh giá hoạt tính androgen của bài thuốc này trên chuột cống đực non, kết quả cho thấy TD0014 có hoạt tính androgen với tác dụng làm tăng trọng lượng các cơ quan sinh dục phụ và nồng độ testosterone huyết thanh. Sản phẩm này hướng tới người sử dụng là nam giới trưởng thành với mục tiêu dự phòng và điều trị suy giảm chức năng sinh dục. Vì vậy, chứng minh hiệu quả của TD0014 trên động vật non là chưa đủ, cần có thêm nghiên cứu đánh giá tác dụng của TD0014 trên động vật trưởng thành, đặc biệt là động vật bị suy giảm sinh sản. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá tác dụng phục hồi của TD0014 trên mô hình gây suy giảm sinh sản bằng natri valproat trên chuột cống đực trưởng thành.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Thuốc nghiên cứu

TD0014 được sản xuất bởi Công ty Cổ phần Sao Thái Dương. Thuốc được bào chế dưới dạng viên hoàn cứng với thành phần gồm 33 vị dược liệu: Bạch tật lê, Cúc hoa, Hoa đào, Đỗ đen, Bá bệnh, Hoa hòe, Hoài sơn, Tỳ giải, Hà thủ ô đỏ, Trần bì, Rễ đinh lăng, Dây đau xương, Mộc qua, Lạc tiên, Đại táo, Thục địa, Dương quy, Trạch tả, Ngưu tất, Ngũ vị tử, Ba kích, Kim anh tử, Tỏi khô, Kỳ tử, Cam thảo, Nhân sâm, Xuyên khung, Nhục thung dung, Bạch trạch, Đảng sâm, Thỏ ty tử, Phá cố chỉ, Nhung hươu.

Động vật nghiên cứu

Chuột cống trắng chủng Wistar, trưởng thành, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 – 220 g. Động vật được nuôi trong phòng thí nghiệm 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

Hóa chất và máy móc phục vụ nghiên cứu

- Natri valproat (NVP) viên nén bao tan trong ruột 200 mg (biệt dược Dépakine), được sản xuất bởi Sanofi Aventis

- Dụng cụ và vật liệu dùng cho phẫu thuật động vật: kính hiển vi phẫu thuật, kéo, nĩa, panh, kim, chỉ, bông, băng, gạc, bơm tiêm,...

- Máy phân tích tinh trùng tự động CASA của hãng Hamilton Ivos.

- Máy xét nghiệm miễn dịch tự động Cobas E411 của hãng Roche

- Cân phân tích, chính xác đến 0,1mg

2. Phương pháp

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 12/2017 đến tháng 01/2018.

Chuột cống đực trưởng thành, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô nghiên cứu. Chuột đực ở các lô 2, 3 và 4 được uống NVP (dung môi pha là nước cất) liên tục trong 7 tuần để gây suy giảm sinh sản. Sau 7 tuần uống NVP, chuột đực ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử như sau:

- Lô 1 (Chứng sinh học): uống nước cất với thể tích 10 mL/kg

- Lô 2 (Mô hình): uống nước cất với thể tích 10 mL/kg

- Lô 3 (TD0014 liều thấp): uống TD0014 liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày

- Lô 4 (TD0014 liều cao): uống TD0014 liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày

Chuột đực uống nước cất hoặc thuốc thử liên tục trong thời gian 10 ngày. Sau 10 ngày uống thuốc, tiến hành ghép chuột, 1 chuột đực được ghép ngẫu nhiên với 2 chuột cái trong

thời gian 2 tuần. Kết thúc thời gian ghép cặp, đánh giá các chỉ số nghiên cứu trên chuột đực và chuột cái như sau:

- Chuột đực:
 - + Lấy máu động mạch cảnh, ly tâm lấy huyết thanh để định lượng nồng độ testosterone bằng kỹ thuật miễn dịch điện hóa phát quang (ECLIA)
 - + Các cơ quan sinh dục (tinh hoàn, mào tinh, túi tinh, tuyến Cowper, đầu dương vật, tuyến tiền liệt, cơ nâng hậu môn – hành hang) được bóc tách và đem cân trọng lượng.
 - + Mật độ tinh trùng và tỷ lệ sống của tinh trùng, tiêu bản hình thái tinh trùng
 - + Tỷ lệ di động của tinh trùng (tiến tới nhanh,

tiến tới chậm, không tiến tới, và không di động), và tốc độ di động của tinh trùng.

+ Hình thái mô học của tinh hoàn sử dụng kỹ thuật nhuộm Hematoxyline-Eosin.

- Chuột cái: xác định tỷ lệ mang thai của chuột cống cái.

Các chỉ số nghiên cứu được so sánh giữa các lô với nhau.

3. Xử lý số liệu

Các số liệu thu được đều được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, sử dụng thuật toán thống kê thích hợp. Số liệu được trình bày dưới dạng MEAN \pm SD. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Ảnh hưởng của TD0014 đến cấu trúc và chức năng của tinh hoàn

Bảng 1. Ảnh hưởng của TD0014 đến trọng lượng tinh hoàn, kích thước ống sinh tinh và nồng độ testosterone huyết thanh

Lô nghiên cứu	Tinh hoàn (mg/100g thể trọng)	Kích thước ống sinh tinh (pixell)	Testosterone (nmol/L)
Lô 1: Dung môi	1294,49 \pm 128,47	429,70 \pm 20,00	8,50 \pm 1,57
Lô 2: Valproat	802,20 \pm 177,11***	380,87 \pm 15,20***	4,93 \pm 1,60***
Lô 3: Valproat + TD0014 liều thấp	874,50 \pm 150,00	405,82 \pm 21,57 ⁺	8,25 \pm 2,00***
Lô 4: Valproat + TD0014 liều cao	1012,02 \pm 131,89 ⁺	405,70 \pm 15,84 ⁺	10,59 \pm 2,31**** [#]

*** $p < 0,001$ so với lô chứng sinh học (Student's *t*-test);

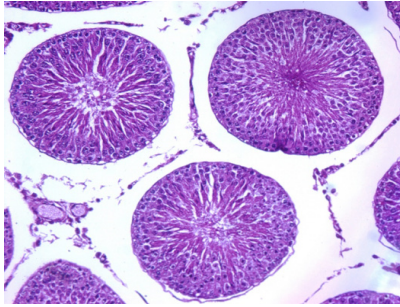
[#] $p < 0,05$ so với lô TD0014 liều thấp (Student's *t*-test);

⁺ $p < 0,05$; ⁺⁺ $p < 0,001$ so với lô mô hình (Student's *t*-test)

Kết quả nghiên cứu ở bảng trên cho thấy:

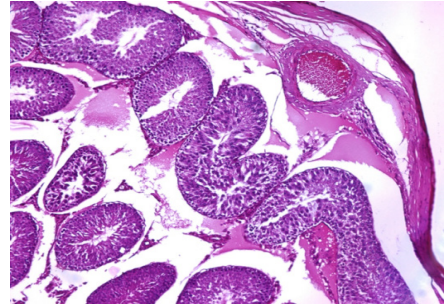
- *Lô mô hình*: chuột cống đực uống natri vaproat 500 mg/kg liên tục 7 tuần có giảm rõ rệt trọng lượng tinh hoàn, kích thước ống sinh tinh và nồng độ testosterone huyết thanh so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

- *Lô uống TD0014*: chuột cống đực uống TD0014 liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày (lô 3) và TD0014 liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày (lô 4) có tăng rõ rệt kích thước ống sinh tinh và nồng độ testosterone huyết thanh so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với giá trị p tương ứng là $< 0,05$ và $< 0,001$. TD0014 liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày thể hiện tác dụng tốt hơn liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày với tác dụng làm tăng đáng kể trọng lượng tinh hoàn so với lô mô hình ($p < 0,05$).



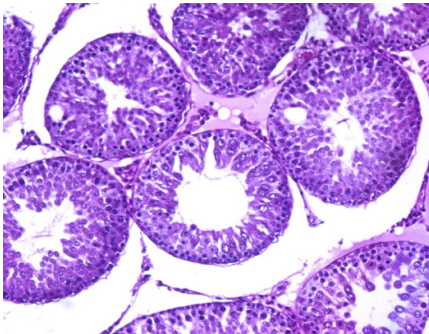
Lô chứng sinh học

Các ống sinh tinh tròn căng, lòng hẹp và chứa nhiều tinh trùng. Mô kẽ thưa thớt, các mạch máu trong mô kẽ nhỏ



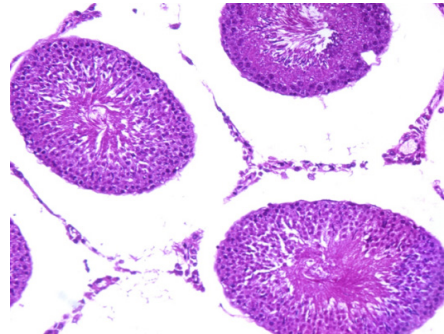
Lô mô hình

Ứ dịch nhẹ trong mô kẽ ngay dưới vỏ xơ, biểu mô tinh có ít tinh trùng



Lô uống TD0014 liều 1,8 g dược liệu/kg

Ứ dịch nhẹ ở mô kẽ dưới vỏ xơ, lòng ống sinh tinh có ít tinh trùng



Lô uống TD0014 liều 5,4 g dược liệu/kg

Biểu mô tinh dày với đầy đủ các loại tế bào dòng tinh

Hình 1. Mô học tinh hoàn của chuột cống đực ở các lô nghiên cứu

Bảng 2. Ảnh hưởng của TD0014 đến mật độ và tỷ lệ sống của tinh trùng

Lô nghiên cứu (n = 9)	Mật độ tinh trùng (106/mL)	Tỷ lệ sống của tinh trùng (%)
Lô 1: Dung môi	161,78 ± 24,15	71,67 ± 6,67
Lô 2: Valproat	60,44 ± 16,48***	58,22 ± 10,03**
Lô 3: Valproat + TD0014 liều thấp	98,44 ± 19,82***	58,89 ± 14,42
Lô 4: Valproat + TD0014 liều cao	107,00 ± 25,62***	67,00 ± 4,21 ⁺

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng sinh học (Student's t-test)

⁺ $p < 0,05$; ⁺⁺⁺ $p < 0,001$ so với lô mô hình (Student's t-test)

Kết quả ở bảng 2 cho thấy:

- Mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng sống của chuột cống đực ở lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$)

- TD0014 liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày có tác dụng cải thiện mật độ tinh trùng so với lô mô hình ($p < 0,001$), tuy nhiên chưa cải thiện được tỷ lệ sống của tinh trùng so với lô mô hình ($p > 0,05$).

- TD0014 liều 5,4 g được liều/kg/ngày làm tăng có ý nghĩa thống kê cả mật độ tinh trùng ($p < 0,001$) và tỷ lệ sống của tinh trùng ($p < 0,05$) so với lô mô hình.

Bảng 3. Ảnh hưởng của TD0014 lên tốc độ di động của tinh trùng

Lô nghiên cứu	Di động (%)			Không di động (%)
	Tiến tới nhanh	Tiến tới chậm	Không tiến tới	
Chứng sinh học	30,33 ± 6,58	15,67 ± 4,18	5,00 ± 1,12	49,00 ± 5,96
Mô hình	2,33 ± 0,71***	4,33 ± 1,22***	6,67 ± 2,00	86,67 ± 2,96***
TD0014 liều thấp	16,44 ± 4,82***	10,22 ± 3,07***	4,22 ± 1,09**	69,11 ± 6,77***
TD0014 liều cao	14,11 ± 4,51***	10,89 ± 3,41***	4,22 ± 1,86 ⁺	70,67 ± 7,45***

*** $p < 0,001$ so với lô chứng sinh học (Student't-test)

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$ so với lô mô hình (Student't-test)

Kết quả ở bảng 3 cho thấy:

- Lô mô hình: tỷ lệ tinh trùng không di động tăng cao rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$).
- Lô uống TD0014 liều thấp và liều cao: tỷ lệ tinh trùng tiến tới tăng cao, đồng thời tỷ lệ tinh trùng không tiến tới và tinh trùng không di động giảm rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với các giá trị $p < 0,05$; $p < 0,01$ hoặc $p < 0,001$

Bảng 4. Ảnh hưởng của TD0014 lên hình thái tinh trùng

Lô nghiên cứu	Tỷ lệ bình thường (%)	Tỷ lệ bất thường (%)		
		Đầu	Cổ	Đuôi
Chứng sinh học	56,83 ± 4,12	19,67 ± 1,21	10,33 ± 2,07	13,17 ± 1,17
Mô hình	44,14 ± 3,67***	26,43 ± 2,88***	14,29 ± 2,63*	15,14 ± 1,86*
TD0014 liều thấp	51,67 ± 4,59++	22,50 ± 4,93	11,00 ± 1,41 ⁺	14,83 ± 1,94
TD0014 liều cao	49,75 ± 5,12 ⁺	23,88 ± 2,36	11,75 ± 1,67 ⁺	14,63 ± 2,45

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng sinh học (Student't-test)

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$ so với lô mô hình (Student't-test)

Số liệu ở bảng 4 cho thấy:

- Chuột ở lô mô hình (lô 2) có tỷ lệ tinh trùng bình thường giảm thấp hơn cùng với tỷ lệ tinh trùng bất thường (đầu, cổ, đuôi) tăng cao hơn rõ rệt so với lô chứng sinh học (lô 1) ($p < 0,001$ và $p < 0,05$).
- Chuột ở các lô uống TD0014 đều có tỷ lệ tinh trùng bình thường tăng cao đáng kể so với lô mô hình ($p < 0,01$ và $p < 0,05$, tương ứng); tỷ lệ tinh trùng bất thường (đầu, cổ, đuôi) có xu hướng giảm so với lô mô hình, trong đó tỷ lệ tinh trùng bất thường cổ là giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình với $p < 0,05$.

2. Ảnh hưởng của TD0014 đến trọng lượng các cơ quan

Kết quả nghiên cứu ở bảng dưới đây cho thấy:

- Lô mô hình: trọng lượng của tất cả các cơ quan sinh dục phụ đều giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$ và $< 0,001$)
- Lô TD0014 liều thấp: tăng có ý nghĩa thống kê trọng lượng của túi tinh và cơ nâng hậu môn-

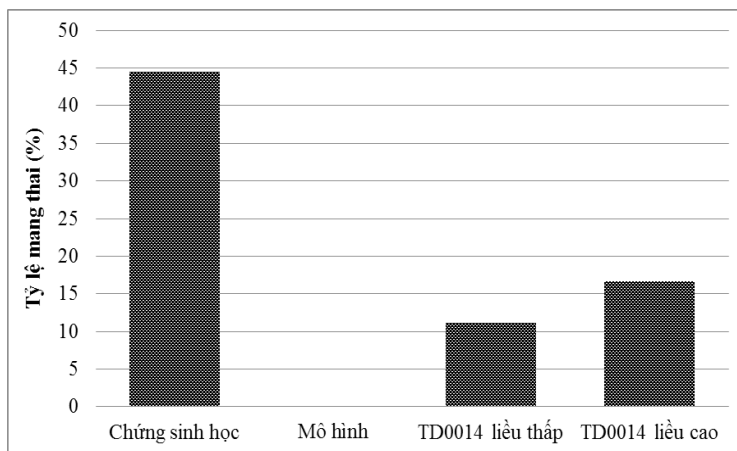
hành hang so với lô mô hình ($p < 0,05$ và $< 0,01$).

- Lô TD0014 liều cao: tăng đáng kể trọng lượng túi tinh, mào tinh và cơ nâng so với lô mô hình ($p < 0,05$; $< 0,01$; $< 0,001$).

Bảng 5. Ảnh hưởng của TD0014 đến trọng lượng các cơ quan sinh dục phụ

Trọng lượng (mg/100 g thể trọng)	Lô nghiên cứu			
	Chứng sinh học	Mô hình	TD0014 liều thấp	TD0014 liều cao
Đầu dương vật	44,24 ± 2,99	39,47 ± 5,73*	39,92 ± 9,77	44,39 ± 5,62
Túi tinh	93,34 ± 22,46	65,60 ± 20,67*	108,85 ± 30,58**	105,46 ± 22,98***
Mào tinh hoàn	341,74 ± 78,77	198,18 ± 44,69***	233,61 ± 48,55	263,49 ± 46,94**
Tuyến tiền liệt	66,27 ± 17,91	51,30 ± 11,03*	60,44 ± 16,46	61,89 ± 17,46
Tuyến Cowper	21,73 ± 4,40	15,93 ± 4,65*	18,76 ± 3,92	19,45 ± 4,67
Cơ nâng	213,70 ± 55,86	161,52 ± 46,75*	236,12 ± 51,03*	234,83 ± 72,76*

3. Ảnh hưởng của TD0014 đến tỷ lệ mang thai trên chuột cống cái



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của TD0014 đến tỷ lệ mang thai của chuột cống cái

Số liệu ở biểu đồ 3.1 cho thấy:

- Lô mô hình (chuột đực uống natri valproat 500 mg/kg trong 7 tuần liên tục, không dùng thuốc gì): không có chuột cái mang thai sau 2 tuần ghép cặp.

- Lô TD0014 liều thấp (chuột đực uống natri valproat 500 mg/kg liên tục trong 7 tuần, sau đó uống TD0014 liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày trong 10 ngày): tỷ lệ mang thai của chuột cái sau 2 tuần ghép cặp là 11,1%.

- Lô TD0014 liều cao (chuột đực uống natri valproat 500 mg/kg liên tục trong 7 tuần, sau đó uống TD0014 liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày trong 10 ngày): tỷ lệ mang thai của chuột cái sau 2 tuần ghép cặp là 16,7%.

- Không có sự khác biệt về tỷ lệ chuột cái mang thai giữa lô TD0014 liều cao và liều thấp ($p(X > \chi^2) = 0,630 > \alpha = 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

NVP là một thuốc chống động kinh được sử dụng rộng rãi trên lâm sàng trong các trường hợp động kinh toàn thể, động kinh cục bộ hoặc các thể động kinh khác.⁶ Nhiều nghiên cứu được thực hiện trên những bệnh nhân động kinh cho thấy, sử dụng NVP kéo dài có thể dẫn đến xuất hiện những ảnh hưởng xấu tới hoạt động sinh sản như giảm nồng độ các hormon sinh dục, giảm số lượng và chất lượng của tinh trùng.^{7,8} Các nghiên cứu trên động vật thực nghiệm với NVP liều 500 mg/kg uống liên tục trong 7 tuần cũng gây nên tình trạng suy sinh dục rõ rệt trên chuột cống đực trưởng thành.^{9,10} Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn mô hình suy giảm sinh sản trên chuột cống đực bằng cách cho động vật thực nghiệm uống NVP liều 500 mg/kg/ngày liên tục trong 7 tuần, trên cơ sở đó đánh giá tác dụng phục hồi của TD0014 đối với chức năng sinh sản của chuột cống đực.

Các số liệu của lô mô hình trong nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy kết quả tương tự các nghiên cứu nêu trên về độc tính của NVP trên cấu trúc và hoạt động của các cơ quan sinh dục: trọng lượng tinh hoàn giảm rõ rệt; hình ảnh mô học tinh hoàn có hiện tượng ứ dịch nhẹ trong mô kẽ ngay dưới vỏ xơ, biểu mô tinh có ít tinh trùng; mật độ tinh trùng và tỷ lệ sống của tinh trùng giảm; gần 90% tinh trùng không di động; tỷ lệ bất thường đầu, cổ và đuôi của tinh trùng đều tăng cao hơn so với lô không uống NVP; nồng độ testosterone huyết thanh thấp; trọng lượng các cơ quan sinh dục phụ giảm đáng kể. Như vậy, độc tính của NVP trên các cơ quan sinh sản đã được thể hiện rất rõ ràng trong nghiên cứu này.

Tác dụng phục hồi tổn thương cấu trúc tinh hoàn do NVP gây ra của TD0014 được thể hiện trong bảng 1 và hình 1. Quan sát bảng 1 nhận thấy, trọng lượng tinh hoàn ở 2 lô chuột uống TD0014 có xu hướng tăng cao hơn lô mô hình,

trong đó mức tăng trọng lượng ở lô uống thuốc thử liều cao là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kích thước ống sinh tinh ở các lô uống TD0014 cũng tăng cao rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$). Tỷ lệ mẫu tinh hoàn có cấu trúc bình thường ở các lô uống TD0014 là 66,7%, cao hơn so với lô mô hình (50%).

Sự suy giảm chức năng của tinh hoàn sau khi uống NVP cũng đã có những sự hồi phục nhất định khi có mặt TD0014. Với chức năng sản sinh tinh trùng, TD0014 đã giúp đẩy nhanh sự hồi phục cả về số lượng và chất lượng tinh trùng. TD0014 liều 1,8 g được liệu/kg và 5,4 g được liệu/kg đều làm gia tăng đáng kể mật độ tinh trùng so với lô mô hình ($p < 0,001$). Tỷ lệ sống của tinh trùng cũng tăng cao hơn ở các lô uống thuốc thử, trong đó lô dùng thuốc thử liều cao thể hiện tác dụng tốt hơn với mức tăng có ý nghĩa thống kê khi so với lô mô hình (bảng 2). Các chỉ số khác về chất lượng tinh trùng, bao gồm hình thái và khả năng di động của tinh trùng, đều cho thấy mức độ phục hồi rõ rệt khi sử dụng TD0014: tỷ lệ phần trăm tinh trùng có hình thái bình thường tăng, đồng nghĩa với giảm tỷ lệ tinh trùng có hình thái bất thường đầu, cổ, đuôi; tỷ lệ tinh trùng không di động hoặc di động tại chỗ giảm, tăng sự có mặt của các tinh trùng có hoạt động tiến tới (bao gồm tiến tới nhanh và tiến tới chậm) tương ứng với tốc độ di động của tinh trùng nhanh hơn. Tỷ lệ mang thai ở chuột cống cái được ghép cặp với các chuột đực uống thuốc thử cũng đã gián tiếp phản ánh các tác động tích cực của TD0014 trên số lượng và chất lượng tinh trùng: tỷ lệ mang thai lần lượt là 11,1% và 16,7% tương ứng với lô uống TD0014 liều thấp và liều cao, trong khi đó không có chuột cái nào mang thai khi ghép cặp với chuột cống đực ở lô mô hình (biểu đồ 1).

Với chức năng nội tiết của tinh hoàn, nồng độ testosterone trong huyết thanh ở các lô uống

TD0014 có sự gia tăng đáng kể so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, và tương tự như trong mô hình bảo vệ, TD0014 liều cao thể hiện tác dụng này tốt hơn liều thấp ($p < 0,05$) (bảng 1). Kết quả này phù hợp tác dụng phục hồi tổn thương cấu trúc tinh hoàn của TD0014 đã được nói đến ở trên. Tương ứng với mức tăng nồng độ testosterone là sự gia tăng trọng lượng một số cơ quan sinh dục phụ ở lô uống TD0014 so với lô mô hình. Ở lô uống TD0014 liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày, trọng lượng của túi tinh và cơ nâng hậu môn-hành hang tăng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình. Với TD0014 liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày, ngoài túi tinh và cơ nâng, mức tăng có ý nghĩa thống kê còn được quan sát thấy khi xác định trọng lượng của mào tinh (bảng 5).

Từ các kết quả nghiên cứu ở trên có thể thấy rằng, TD0014 thể hiện được tác dụng phục hồi trên mô hình gây suy giảm sinh sản bằng NVP, và tương tự trong mô hình bảo vệ, liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày thể hiện tác dụng tốt hơn liều 1,8 g dược liệu/kg/ngày.

Cơ chế chính xác về tác động của NVP đối với chức năng sinh sản vẫn chưa được hiểu biết đầy đủ. Nhiều giả thuyết đã được đưa ra để giải thích cho tác động này của NVP. Các nhà khoa học quan sát thấy, trên những bệnh nhân động kinh sử dụng NVP có sự gia tăng nồng độ estradiol và tiền chất của testosterone, androstenedion, điều này có thể tạo ra một feedback âm tính về vùng dưới đồi, dẫn đến làm giảm sản xuất các gonadotropin.⁷ Tăng hoạt động của hệ GABAergic làm giảm giải phóng các gonadotropin cũng là một giả thuyết về ảnh hưởng của NVP đến nồng độ các hormon sinh dục.¹¹ NVP còn được chứng minh là có khả năng làm tăng sinh các gốc tự do gây tổn thương các cấu trúc của tế bào, thúc đẩy quá trình apoptosis, do đó làm suy giảm hoạt động của các cơ quan, trong đó có các cơ quan

sinh dục.¹²

Cơ chế thực sự về tác dụng phục hồi của TD0014 trước những tác động có hại của NVP đối với cấu trúc và hoạt động của các cơ quan sinh dục chưa được xác định. Tuy nhiên, dựa trên kết quả những nghiên cứu riêng lẻ về các dược liệu thành phần của TD0014 có thể giải thích phần nào hiệu quả của bài thuốc trên mô hình nghiên cứu này. Các vị thuốc đã được sử dụng từ lâu theo y học cổ truyền nhằm mục đích kích thích hoạt động tình dục như Bạch tật lê, Bá bệnh, Nhục thung dung, Ba kích, Kỷ tử, Thỏ ty tử, Nhân sâm, và Phá cố chỉ đều thể hiện đồng thời được tác dụng làm tăng nồng độ các hormon sinh dục (testosterone, FSH, LH) và tác dụng chống oxy hóa trên nhiều nghiên cứu thực nghiệm và lâm sàng. Nhiều vị dược liệu khác trong bài thuốc TD0014, mặc dù chưa có những nghiên cứu cho thấy hiệu quả của những dược liệu này trong cải thiện hoạt động tình dục và chức năng sinh sản, nhưng đều đã được chứng minh về tác dụng chống oxy hóa, do đó sẽ giúp bảo vệ các cơ quan sinh sản trước sự hình thành các gốc tự do do NVP gây ra.

Bạch tật lê (*Tribulus terrestris*) là vị thuốc chiếm lượng thành phần lớn nhất trong bài thuốc TD0014. Trên các nghiên cứu thực nghiệm, Bạch tật lê với thành phần protodioscin có tác dụng kích thích sản xuất testosterone từ các tế bào Leydig, đồng thời làm tăng chuyển testosterone thành chất có hoạt tính mạnh dihydrotestosterone; furostanol, một saponin có mặt trong Bạch tật lê cũng thể hiện tác dụng làm tăng nồng độ testosterone máu và quá trình sản sinh tinh trùng thông qua khả năng làm tăng sản xuất các gonadotropin từ tuyến yên; bên cạnh đó, Bạch tật lê cũng được chứng minh là có tác dụng chống oxy hóa nhờ sự có mặt của hoạt chất chống oxy hóa mạnh 4,5-dip-coumaroylquinic acid.¹³

Bá bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack.) là một

trong những vị thuốc y học cổ truyền được biết đến rất nhiều với tác dụng kích thích hoạt động tinh dục. Nghiên cứu của Pramoto H (2017) cho thấy, dịch chiết từ rễ Bá bệnh có khả năng ảnh hưởng đến hoạt động của vùng dưới đồi-tuyến yên, cụ thể hơn là làm tăng số lượng và hoạt động của các tế bào ưa bazơ chịu trách nhiệm sản xuất LH ở thùy trước của tuyến yên, từ đó kích thích các tế bào Leydig tăng sản xuất androgen, dehydroepiandrosteron và testosterone, kích thích sản sinh tinh trùng tại tinh hoàn.¹⁴ Hợp chất eurycomanone chiết xuất từ Bá bệnh còn làm tăng nồng độ testosterone bằng cách ức chế aromatase chuyển testosterone thành estrogen, và cũng có thể liên quan đến ức chế phosphodiesterase. Bá bệnh cũng đã được chứng minh là một dược liệu có tác dụng chống oxy hóa mạnh nhờ có chứa một lượng lớn các thành phần có tác dụng chống oxy hóa như các alkaloid, triterpen, polysaccharid, và đặc biệt là enzym chống oxy hóa mạnh superoxide dismutase.¹⁵

Nhục thung dung (Herba Cistanches) cũng là một dược liệu thường được chỉ định điều trị trong các trường hợp suy sinh dục nam theo y học cổ truyền. Dịch chiết ethanol của Nhục thung dung có thể làm tăng nồng độ các hormon sinh dục bằng cách cảm ứng các enzym tổng hợp steroid tại tinh hoàn (CYP11A1, CYP17A1, CYP3A4), cũng như cảm ứng sự biểu hiện gen của 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (enzym liên quan đến tổng hợp testosterone), 5 α -reductase-2 và aldo-keto reductase (những enzym liên quan dihydrotestosteron). Phenylethanoid glycoside được xác định là các hợp chất chịu trách nhiệm về tác dụng chống oxy hóa của Nhục thung dung.¹⁶

Ngoài ra, tác dụng kích thích sản xuất và bài tiết các hormon sinh dục và tác dụng chống oxy hóa của Ba kích, Kỷ tử, Thổ ty tử, Nhân sâm, Phá cố chỉ cũng đã được chỉ ra trong nhiều

nghiên cứu khác nhau.^{17,18,19,20,21}

V. KẾT LUẬN

TD0014 có tác dụng phục hồi trên mô hình gây suy giảm sinh sản bằng NVP trên chuột cống đực trưởng thành, với tác dụng mạnh hơn ở mức liều 5,4 g dược liệu/kg/ngày, thể hiện thông qua khả năng phục hồi trọng lượng các cơ quan sinh dục, tăng nồng độ testosterone huyết thanh, cải thiện cả số lượng và chất lượng tinh trùng, giảm mức độ tổn thương trên hình ảnh mô học tinh hoàn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kumar P, Kumar N, Thakur DS and Patidar A. Male hypogonadism: Symptoms and treatment. *J Adv Pharm Technol Res* 2010; 1(3):297–301
2. Zarotsky V, Huang MY, Carman W, et al. Systematic Literature Review of the Epidemiology of Nongenetic Forms of Hypogonadism in Adult Males. *Andrology* 2014; 2(6):819-834. doi: 10.1111/andr.274. Epub 2014 Oct 1.
3. Dohle GR, Arver S, Bettocchi C et al (2015). Guidelines on Male Hypogonadism. *European Association of Urology*.
4. Osterberg EC, Bernie AM, and Ramasamy R. Risks of testosterone replacement therapy in men. *Indian J Urol* 2014; 30(1):2–7.
5. Bộ môn Y học Cổ truyền, Đại học Y Hà Nội. Y học cổ truyền (Đông Y). *Nhà xuất bản Y học*; 2006
6. Bộ Y tế. Dược thư quốc gia Việt Nam. Lần xuất bản thứ hai. *Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội*; 2015:140–143
7. Aldemir E, Akdeniz F. Effects of Valproate on Male Reproductive Functions. *Turkish Journal of Psychiatry* 2009; 20(4):376–384
8. Najafi MR, Ansari B, Zare M, et al. Effects of antiepileptic drugs on sexual function and reproductive hormones of male epileptic

patients. *Iran J Neurol* 2012; 11(2):37–41.

9. Bairy L, Paul V, Rao Y. Reproductive toxicity of sodium valproate in male rats. *Indian Journal of Pharmacology* 2010; 42(2):90-94.

10. Nishimura T, Sakai M, Yonezawa H. Effects of valproic acid on fertility and reproductive organs in male rats. *The Journal of Toxicological Sciences* 2000; 25(2):85-93

11. Isojärvi JIT. Disorders of reproduction in patients with epilepsy: Antiepileptic drug related mechanisms. *Seizure* 2008; 17:111–119.

12. Cárdenas-Rodríguez N, Coballase-Urrutia E, Rivera-Espinosa L, et al. Modulation of Antioxidant Enzymatic Activities by Certain Antiepileptic Drugs (Valproic Acid, Oxcarbazepine, and Topiramate): Evidence in Humans and Experimental Models. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013:598493. doi: 10.1155/2013/598493. Epub 2013 Dec 17..

13. Adaikan PG, Gauthaman K, Prasad RN. History of herbal medicines with an insight on the pharmacological properties of *Tribulus terrestris*. *Aging Male* 2001; 4(3):163–169

14. Pramoto H (2017). *Eurycoma longifolia* extract increases intracellular production activity of luteinizing hormone (LH) in pituitary. International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences 2016 (ISCPMS 2016), *AIP Conference Proceedings*; 1862:030112. doi: 10.1063/1.4991216

15. Rehman SU, Choe K, Yoo HH. Review on a Traditional Herbal Medicine, *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali): Its Traditional Uses, Chemistry, Evidence-Based Pharmacology and

Toxicology. *Molecules* 2016; 21(3): 331. doi: 10.3390/molecules21030331.

16. Li Z, Lin H, Gu L, et al. Herba Cistanche (Rou Cong-Rong): One of the Best Pharmaceutical Gifts of Traditional Chinese Medicine. *Front Pharmacol* 2016; 7:41. doi: 10.3389/fphar.2016.00041. eCollection 2016.

17. Wu ZQ, Chen DL, Lin FH, et al. Effect of bajijiasu isolated from *Morinda officinalis* F. C. how on sexual function in male mice and its antioxidant protection of human sperm. *J Ethnopharmacol* 2015; 164:283-292

18. Luo Q, Cui X, Yan J et al. *Lycium barbarum* polysaccharides: Protective effects against heat-induced damage of rat testes and H₂O₂-induced DNA damage in mouse testicular cells and beneficial effect on sexual behavior and reproductive function of hemicastrated rats. *Life Sci* 2006; 79(7):613-621

19. Yang S, Xu H, Zhao B, et al. The Difference of Chemical Components and Biological Activities of the Crude Products and the Salt-Processed Product from Semen *Cuscutae*. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016; Volume 2016, Article ID 8656740, 9 pages. doi: 10.1155/2016/8656740

20. Leung KW, Wong AST (2013). Ginseng and male reproductive function. *Spermatogenesis* 2013; 3(3):e26391. Epub 2013 Sep 13

21. Rajput S, Meena, Singh S, Rama Murthy A. Brief review of Bakuchi (*Psoralea corylifolia* Linn.) and its therapeutic uses. *Ayurpharm Int J Ayur Alli Sci* 2014; 3(11)322-330

Summary
**RESTORATIVE EFFECTS OF TD0014 AGAINST SODIUM
VALPROATE –INDUCED REPRODUCTIVE TOXICITY
IN MALE RATS**

Male hypogonadism is a clinical syndrome caused by androgen deficiency which may adversely affect multiple organ functions and quality of life, and this is one of the causes of infertility. This study was carried out to assess the restorative activities of the TD0014 against sodium valproate (SVP)-induced reproductive toxicity in rats. After administering SVP (500 mg/kg) for 7 consecutive weeks, the animals were treated with TD0014 at 1.8 g/kg/day and 5.4 g/kg/day for 10 days before all reproductive parameters were assessed. The results showed all doses of TD0014 significantly rehabilitated the decrease testicular weight and testosterone level in SVP rats. TD0014 significantly improved the low sperm count and sperm motility in SVP treated rats. Moreover, testicular histology of TD0014 + SVP groups showed declining of testicular histopathologies as compared to SVP group. Therefore, it appears that TD0014 can rehabilitate testicular and spermatozoal damage in male rats induced with SVP. The higher positive effect was seen with TD0014 at 5.4 g/kg dosage when compared to the 1.8 g/kg dosage.

Key words: TD0014, sodium valproate, male rat