

Tác dụng của viên nang hồi xuân hoàn lên hình thái cấu trúc tinh hoàn chuột cống trắng bị tổn thương do nhiệt

Đoàn Minh Thụy*; **Quản Hoàng Lâm****
Trương Việt Bình*; **Vũ Mạnh Hùng**** và CS

TÓM TẮT

60 chuột cống trắng đực *Rattus norvegicus*, thuần chủng, 3 tháng tuổi, được gây tổn thương tinh hoàn trong nước 43°C, thời gian 30 phút, một lần duy nhất. Chia chuột ngẫu nhiên làm 03 lô: lô chứng: 20 chuột uống nước cất; lô 20 chuột uống viên nang Hồi xuân hoàn (HXH) liều 1,5 g/kg trọng lượng cơ thể (TLCT); lô 20 chuột uống viên nang HXH liều 3 g/kg TLCT, uống 30 ngày, giết chuột vào ngày thứ 35 và 70 để đánh giá hình ảnh vi thể tinh hoàn. Kết quả: HXH có tác dụng làm tế bào dòng tinh tăng sinh, thúc đẩy quá trình hồi phục hình thái cấu trúc tinh hoàn chuột cống trắng gây tổn thương bằng nhiệt trở lại bình thường sớm hơn so với lô chứng.

* Từ khoá: Cấu trúc tinh hoàn; Viên nang Hồi xuân hoàn; Tổn thương do nhiệt; Chuột.

The effects of hoixuanhoan capsules on morphological structure of local heating injured rat testes

SUMMARY

60 male rats (*Ratus norvegicus*) homogen age of 3 months, were injured by hot water 43°C for 30 minutes. After that, all these rats were divided into 03 groups: Control group: 20 rats were received placebo; the study group I: 20 rats taken one dose of HXH (1.5 g/kg BW); the study group II: 20 rats taken double dose of HXH (3,0 g/kg BW); The rats were kept taking dose for 30 days. On the 35th day and on the 70th day, the rats were killed to test their morphological structure. Results: HXH make reproductive cells increase compared to control ones. HXH capsules make the changes in morphological structure of injured testes recover faster in comparison with the control ones.

* Key words: Morphological structure; Hoixuanhoan capsure; Heating injured; Rat.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ lâu, y học đã chứng minh nhiệt độ của tinh hoàn tăng cao như giãn tĩnh mạch tinh, tinh hoàn ỉn... làm giảm số lượng và chất lượng tinh trùng, dẫn đến vô sinh. Một

số tác giả trên thế giới cũng như trong nước khi nghiên cứu tác hại của nhiệt lên tinh hoàn động vật thực nghiệm đã ghi nhận những tổn thương do nhiệt gây nên và tổn thương này sẽ tự hồi phục sau một thời gian nếu chỉ bị một lần phơi nhiễm [1, 3, 4].

* Học viện Y Dược học Cổ truyền

** Học viện Quân y

Phân biện khoa học: PGS. TS. Hoàng Văn Long

Nếu ngâm tinh hoàn chuột trong nước, nhiệt độ 43°C, một lần duy nhất, thời gian 30 phút, quan sát hình ảnh vi thể tinh hoàn thấy: vào ngày thứ 14 và 21, cấu trúc tinh

hoàn tự hồi phục và hồi phục hoàn toàn vào ngày thứ 35 [3, 4]. Nhằm từng bước đánh giá tác dụng của viên nang HXH trên quá trình sinh tinh của chuột đực, chúng tôi tiến

hành gây tổn thương tinh hoàn chuột bằng nhiệt và cho chuột uống HXH, với mục tiêu: Đánh giá tác dụng của viên nang HXH trên cấu tạo vi thể ống sinh tinh và tuyến kẽ tinh hoàn chuột cống trắng.

CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chất liệu nghiên cứu.

- Viên nang HXH 500 mg được sản xuất từ các dược liệu: Thục địa, Hoài sơn, Sơn thù, Đỗ trọng, Cam thảo, Nhục quế, Phụ tử chế, Câu kỷ tử. Thuốc đạt tiêu chuẩn cơ sở, do Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam sản xuất.

- Bồn ổn nhiệt từ 30 - 80°C, sai số 0,2°C do Nhật Bản sản xuất.

2. Đối tượng nghiên cứu.

60 chuột cống trắng đực, chủng Rattus norvegicus, 3 tháng tuổi, trọng lượng 127,0 ± 16,8g. Chuột được nuôi trong điều kiện chuẩn. Gây tổn thương tinh hoàn trong nước 43°C, sau đó chia ngẫu nhiên vào 03 lô: lô chứng: 20 chuột uống nước cất; lô 20 chuột uống viên nang HXH 1,2 g/kg TLCT; lô 20 chuột uống viên nang HXH liều 2,4 g/kg TLCT.

3. Phương pháp nghiên cứu.

Nghiên cứu thực nghiệm can thiệp.

- Chỉ số nghiên cứu: nhận xét định tính những thay đổi mô học tinh hoàn, các tiêu chí định tính ở mức vi thể: hình dáng và vị trí của ống sinh tinh và tuyến kẽ; hình ảnh

của biểu mô tinh hoàn trên các mặt cắt qua ống sinh tinh; hình ảnh vi thể của tế bào dòng tinh và tế bào tuyến kẽ.

* Phương pháp nghiên cứu:

- Liều và cách dùng: 2 mức liều: liều I (được ngoại suy từ liều điều trị đã sử dụng trên người): 1,5 g/kg TLCT ; liều 2: 3 g/kg TLCT. Uống 30 ngày.

- Cách tiến hành: gây tổn thương tinh hoàn chuột bằng nước 43°C trong 30 phút theo phương pháp của Bartlett J.M [1] và Setchell [4], một lần duy nhất: cố định chuột theo chiều thẳng đứng vào một chiếc giá, băng ép vào bụng dưới chuột để hai tinh hoàn bị đẩy xuống phía dưới, ngâm tinh hoàn trong nước ổn định nhiệt độ ở 43°C, thời gian 30 phút, nước 43°C được cung cấp và kiểm soát, độ sai số tối đa không quá 0,2°C.


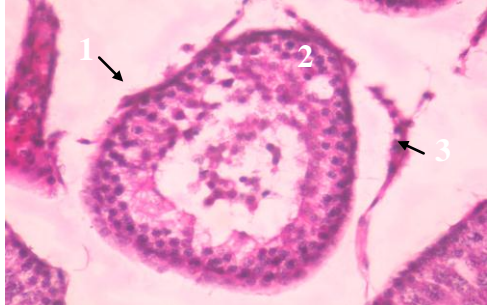
Giết chuột vào ngày thứ 35 và 70; lấy mẫu mô tinh hoàn ở vị trí ngẫu nhiên, cố định trong dung dịch Bouin. Làm tiêu bản vi thể, nhuộm hai màu Hematoxylin HE. Mỗi mẫu mô quan sát trên 3 tiêu bản.

Nghiên cứu thực hiện tại Bộ môn Dược lý, Trung tâm Công nghệ Phôi, Học viện Quân y từ tháng 8 - 2007 đến 4 - 2008

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Lô chứng (1): chuột cống bị tổn thương nhiệt tại tinh hoàn, uống nước cất.

* Ngày thứ 35 (n = 10), kết quả nghiên cứu vi thể cho thấy:

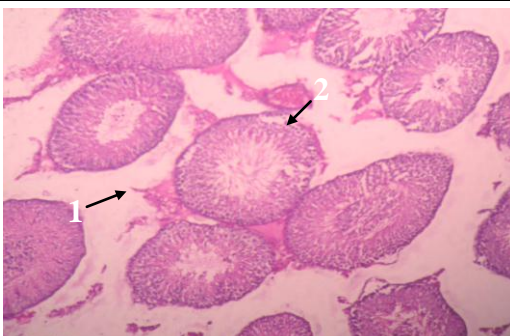
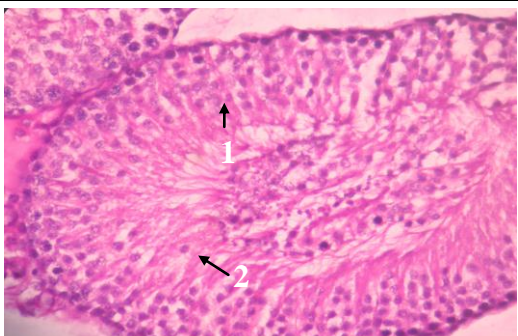
	
<p>Hình 1: (H.E × 100) mặt cắt qua tinh hoàn chuột lô chứng (ngày thứ 35) 1: Mô kẽ; 2: OST</p>	<p>Hình 2: (H.E × 400) mặt cắt qua OST chuột chứng (ngày thứ 35) 1. Tinh nguyên bào; 2. Tinh bào; 3. Mô kẽ</p>

- Ống sinh tinh (OST) và mô kẽ: lát cắt qua tinh hoàn thấy các OST có hình bầu dục, đường kính dài ngắn khác nhau và giảm so với bình thường. Mô liên kết thâm nhiễm tế bào viêm, mạch máu bị xung huyết, tuyến kẽ có tế bào kẽ và chưa thấy tổn thương.

- Tế bào biểu mô tinh: tinh nguyên bào nằm thành một hàng sát màng đáy, nhân bắt màu base đậm, có hai loại sẫm màu và nhạt màu; tinh bào: kích thước nhân lớn, khối chất nhiễm sắc bắt màu base đậm, xếp thành từ 2 đến 4 hàng, tùy từng biểu mô tinh. Không thấy có tinh tử và tinh trùng.

Tế bào Sertoli có nhân tròn, sáng màu, lớn, nằm gần màng đáy, hạt nhân rõ, bào tương khó phân biệt với bào tương của các tế bào dòng tinh (hình 2).

* Ngày thứ 70 (n = 10), kết quả nghiên cứu vi thể cho thấy:

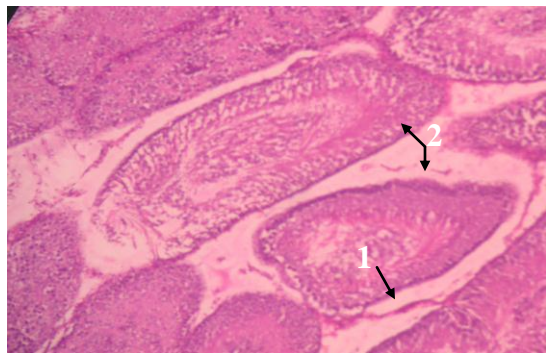
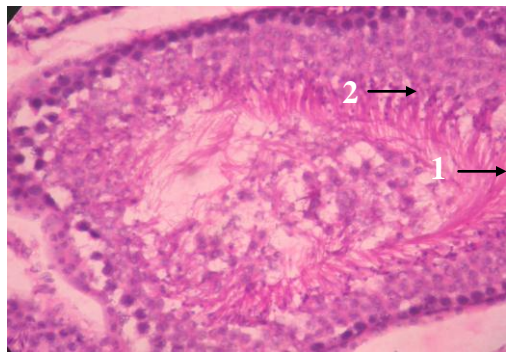
	
<p>Hình 3: (H.E × 100) mặt cắt qua tinh hoàn chuột lô chứng (ngày thứ 70) 1: Mô kẽ ; 2: OST</p>	<p>Hình 4: (H.E × 400) mặt cắt qua OST chuột chứng (ngày thứ 70). 1. Tinh tử; 2. Tinh trùng</p>

- OST và mô kẽ: lát cắt qua tinh hoàn thấy OST có hình bầu dục, đường kính đã tương đối bình thường. Mô liên kết còn thâm nhiễm tế bào viêm, mạch máu vẫn còn xung huyết nhẹ, tuyến kẽ bình thường (hình 3).

- Tế bào biểu mô tinh: đã có đầy đủ các giai đoạn của tế bào dòng tinh, ngoài tinh nguyên bào và tinh bào, xuất hiện các tinh tử và tinh trùng, tế bào Sertoli bình thường (hình 4).

2. Lô thuốc liều 1,5 g/kg TLCT.

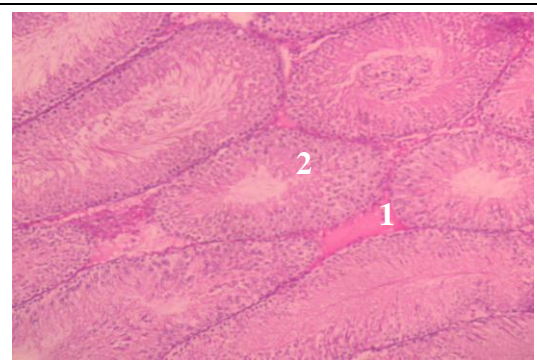
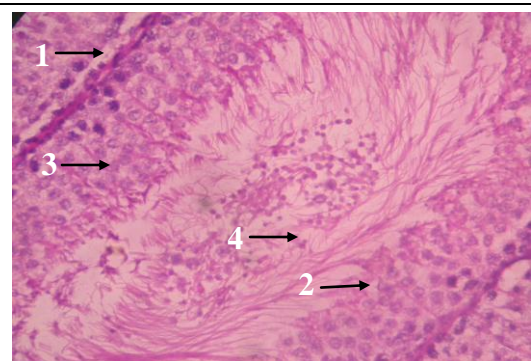
* Ngày thứ 35 (n = 10), kết quả nghiên cứu vi thể cho thấy:

	
<p>Hình 5: (H.E × 100) mặt cắt qua tinh hoàn chuột lô 1,5 g/kg TLCT (ngày 35). 1: Mô kẽ; 2: OST</p>	<p>Hình 6: (H.E × 400) mặt cắt qua OST chuột lô 1,5 g/kg TLCT (ngày 35). 1. Tinh trùng; 2. Tinh tử</p>

- OST và mô kẽ: lòng ống sinh tinh rộng, mô liên kết còn thâm nhiễm viêm, xung huyết rõ. Tế bào Leydig số lượng, hình dạng bình thường (hình 5).

- Biểu mô tinh: cấu trúc biểu mô tinh không bị đảo lộn, các tế bào dòng tinh tăng sinh, nhất là số lượng tinh tử và tinh trùng trưởng thành. Tế bào Sertoli bình thường (hình 6).

* Ngày thứ 70 (n = 10), kết quả nghiên cứu vi thể cho thấy:

	
<p>Hình 7: (H.E × 100) mặt cắt qua tinh hoàn chuột lô 1,5 g/kg TLCT (ngày 70). 1: Mô kẽ; 2: OST</p>	<p>Hình 8: (H.E × 400) mặt cắt qua OST chuột lô 1,5 g/kg TLCT (ngày 70). 1. Tinh nguyên bào; 2. Tinh bào;</p>

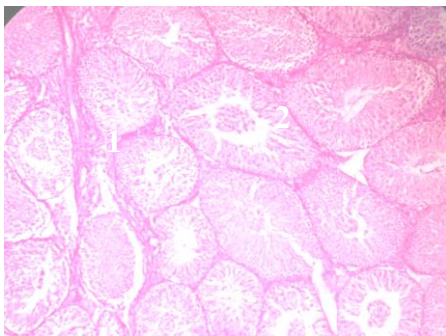
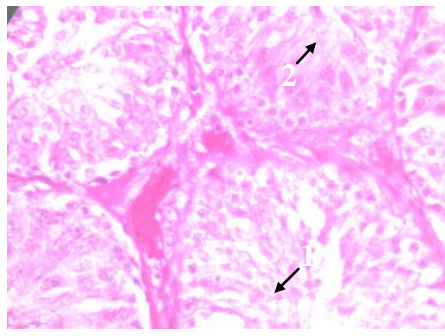
	3. Tiền tinh trùng; 4. Tinh trùng
--	-----------------------------------

- OST và mô kẽ: OST hẹp lại gần bình thường, xung huyết nhẹ mô kẽ, không thấy thâm nhiễm viêm. Tế bào Leydig số lượng, hình dạng bình thường (*hình 7*).

- Biểu mô tinh: các OST đã hồi phục hoàn toàn, các tinh nguyên bào, tinh bào tăng sinh nhiều, tinh tử và tinh trùng trưởng thành giảm hơn giai đoạn trước nhưng vẫn nhiều hơn ở lô chứng. Tế bào Sertoli bình thường (*hình 8*).

3. Lô thuốc liều 3 g/kg TLCT.

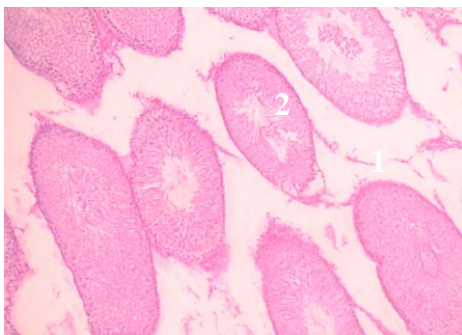
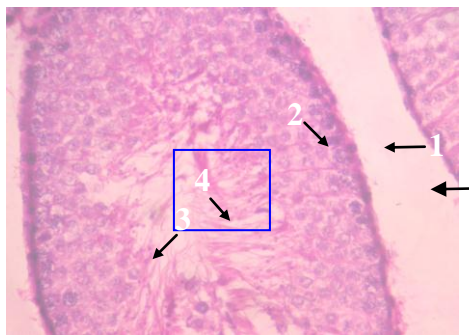
* Ngày thứ 35 (n = 10), kết quả nghiên cứu vi thể cho thấy:

	
<p><i>Hình 9:</i> (H.E × 100): mặt cắt qua tinh hoàn chuột lô 3g/kg TLCT (ngày 35). 1: Mô kẽ xung huyết; 2: OST</p>	<p><i>Hình 10:</i> (H.E × 400) mặt cắt qua OST chuột lô 3g/kg TLCT (ngày 35). 1. Tinh tử; 2. Tinh trùng;</p>

- OST và mô kẽ: lát cắt ngang qua các OST có hình bầu dục, đường kính tương đối bình thường. Mô liên kết thấy nhiều mạch máu, các mạch máu bị xung huyết mạnh, thâm nhiễm một số tế bào viêm. Tế bào Leydig hình dạng bình thường, nhưng bào tương bắt màu axit mạnh (*hình 9*).

- Biểu mô tinh: cấu trúc biểu mô tinh không bị đảo lộn, các tế bào dòng tinh tăng sinh, có đầy đủ giai đoạn của tế bào dòng tinh, nhiều hình ảnh tinh bào đang phân chia, có nhiều tinh tử và tinh trùng. Tế bào Sertoli bình thường (*hình 10*).

* Ngày thứ 70 (n = 10), kết quả nghiên cứu vi thể cho thấy:

	
<p><i>Hình 11:</i> (H.E × 100) mặt cắt qua tinh hoàn chuột lô 3g/kg TLCT (ngày 35).</p>	<p><i>Hình 12:</i> (H.E × 400) mặt cắt qua OST chuột lô 3g/kg TLCT (ngày 35).</p>

1: Mô kế; 2: OST	1. Tinh nguyên bào; 2. Tinh bào; 3. Tinh tử; 4. Tinh trùng
------------------	---

- OST kích thước bình thường, không tăng sinh tế bào Leydig, hết xung huyết (*hình 11*).
- Biểu mô tinh: tế bào dòng tinh có đầy đủ các giai đoạn. Tuy nhiên, số lượng tinh tử và tinh trùng vẫn nhiều hơn bình thường. Tế bào Sertoli bình thường (*hình 12*).

BÀN LUẬN

Theo nghiên cứu của nhiều tác giả trong và ngoài nước, nếu gây tổn thương tinh hoàn bằng nước 43°C một lần duy nhất trong 30 phút, cấu trúc và chức năng tinh hoàn bắt đầu hồi phục vào ngày thứ 21, 35 và sẽ hồi phục hoàn toàn vào ngày thứ 70 [1, 2, 4].

Kết quả nghiên cứu thấy: lô chuột chứng ở ngày thứ 35, cấu trúc tế bào dòng tinh biến đổi rõ rệt, không thấy tinh tử và tinh trùng, tế bào Sertoli và tế bào kẽ không có biến đổi. Ngày thứ 70, cấu trúc tinh hoàn đã hồi phục nhưng chưa thật hoàn toàn. Như vậy, mô hình gây tổn thương tinh hoàn đạt được những yêu cầu đề ra của quá trình nghiên cứu. Kết quả tương tự với kết quả của B.P. Setchell, L. Ploen và E.M. Ritzen [4] và Đậu Xuân Cảnh, Phạm Thị Minh Đức [2, 3].

Ở các lô uống thuốc vào ngày thứ 35, hình thái cấu trúc tinh hoàn đã hồi phục, biểu hiện bằng OST với sự có mặt đầy đủ các giai đoạn của tế bào dòng tinh, tăng sinh tế bào dòng tinh, tăng số lượng tinh trùng trong lòng OST so với lô chứng, tế bào Sertoli. Tế bào kẽ bào tương bắt màu axit mạnh, liều 3g, mạnh hơn liều 1,5g, điều này chứng tỏ HXH kích thích tế bào kẽ hoạt động mạnh hơn ở lô chuột chứng không uống thuốc.

Như vậy, HXH làm hồi phục cấu trúc biểu mô tinh của OST sớm hơn với tốc độ nhanh hơn ở nhóm chứng. Ở mức liều II, có hiện tượng tăng sinh mạnh các tế bào dòng tinh, xung huyết mạnh mô liên kết hơn so với liều I. Tuy nhiên, sau 06 tuần dừng thuốc, OST trở về bình thường, không tích lũy thuốc.

KẾT LUẬN

- HXH kích thích tế bào dòng tinh tăng sinh mạnh hơn so với lô chứng.
- HXH có tác dụng thúc đẩy quá trình hồi phục hình thái cấu trúc tinh hoàn chuột cống trắng gây tổn thương bằng nhiệt trở lại bình thường sớm hơn so với lô chứng.
- HXH liều I có tác dụng tốt hơn liều II.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đậu Xuân Cảnh, Phạm Thị Minh Đức, Trịnh Bình, Nguyễn Nhược Kim*. Những biến đổi hình thái của tinh hoàn chuột cống trắng trưởng thành dưới tác động của nhiệt. Tạp chí Nghiên cứu Y học, số phụ trương. 2004, số 5, tr.28-35.
2. *Đậu Xuân Cảnh, Phạm Thị Minh Đức, Trịnh Bình, Nguyễn Nhược Kim*. Ảnh hưởng của Hải mã-Nhân sâm lên quá trình hồi phục hình thái-chức năng tinh hoàn chuột cống trắng. Tạp chí Sinh lý học. 2007, tập 11, số 1, tháng 4.
3. *Bartlett J. M, Sharpe R. M*. Effect of local heating of the rat Testis on the levels in interstitial fluid of a putative paracrine regulator of the Leydig cells and its relationship to changes in Sertoli cell secretory function. *J Reprod Fertil*. 1987, 80 (1), pp.279-287.

4. *B. P. Setchell, L. Ploen and E. M. Ritzen.* Effect of local heating of rat testes after suppression of spermatogenesis by pretreatment with a GnRH agonist and an anti-androgen. *Reproduction.* 2002, 124, pp.133-140.

5. *WHO.* Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Manila, Philipin. 1993, pp.35-41.