

Ảnh hưởng của dịch chiết cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum*) lên quá trình phát sinh tinh ở chuột stress nhiệt độ cao

Nguyễn Thanh Tùng^{1,2*}, Nguyễn Thị Khánh Quỳnh³

(1) Khoa Cơ Bản, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Viện Y Sinh học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(3) Công ty TNHH MTV Công nghệ sinh học QueenLabs, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum*) là loại dược liệu quý được sử dụng trong nhiều bài thuốc đông y. Suy giảm chức năng sinh sản nam do nhiều yếu tố, trong đó có yếu tố do stress nhiệt độ cao. Nghiên cứu này nhằm khảo sát tác dụng bảo vệ quá trình phát sinh tinh ở chuột dưới tác động của stress nhiệt của dịch chiết Giảo cổ lam. **Phương pháp nghiên cứu:** Chuột đực được xử lý nhiệt ở 40°C và cho uống dịch chiết Giảo cổ lam ở các liều 100, 200 và 400 mg/kg. Sau 5 tuần xử lý, chuột được thu mẫu máu để xác định nồng độ Testosterone trong huyết tương. Cấu trúc vi thể ống sinh tinh được khảo sát thông qua hình ảnh nhuộm mô học HE. Mức độ phát sinh tinh được đánh giá thông qua thang điểm Johnson. **Kết quả:** Stress nhiệt độ 40°C trong 5 tuần đã làm giảm mạnh nồng độ testosterone trong huyết tương máu cũng như quá trình phát sinh tinh diễn ra trong lòng ống sinh tinh mô tinh hoàn. Chuột xử lý stress nhiệt kết hợp uống cao chiết Giảo cổ lam đã cải thiện đáng kể nồng độ Testosterone trong máu. Quá trình phát sinh tinh cũng được cải thiện rõ rệt thông qua hình ảnh mô học ống sinh tinh và thang điểm Johnson. **Kết luận:** Cao chiết Giảo cổ lam giảm tác động làm suy giảm chức năng sinh sản trên chuột đực stress nhiệt thông qua cải thiện nồng độ Testosterone trong máu và quá trình phát sinh tinh trong lòng ống sinh tinh.

Từ Khóa: Giảo cổ lam, dược liệu, stress nhiệt, sinh tinh.

Effect of *Gynostemma pentaphyllum* extract on spermatogenesis in heat stress-induced mice

Nguyen Thanh Tung^{1,2*}, Nguyen Thi Khanh Quynh³

(1) Faculty of Basic Science, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Institute of Biomedicine, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(3) QueenLabs Biotechnology Company, Thua Thien Hue, Vietnam

Abstract

Background: *Gynostemma pentaphyllum* is a precious medicinal herb used in traditional medicines. Male reproductive dysfunction is caused by many factors, including heat stress. This study aimed to investigate the protective effect of *Gynostemma pentaphyllum* extract on spermatogenesis in heat stress-induced mice. **Materials and Methods:** Male mice were exposed at 40°C and treated with *Gynostemma pentaphyllum* extract at doses of 100, 200, and 400 mg/kg. After 5 weeks of treatment, blood samples were collected to determine the concentration of Testosterone in blood plasma. The histological structure of the seminiferous tubules was investigated through HE histological staining. The spermatogenesis progress was assessed using the Johnson scoring system. **Results:** Heat stress exposed at 40°C for 5 weeks has strongly reduced the concentration of testosterone in blood plasma as well as spermatogenesis in the lumen of the seminiferous tubules of testicular tissue. Heat stress-induced mice treated with oral administration of *Gynostemma pentaphyllum* extract significantly improved blood testosterone levels. Histological analysis and Johnson scoring show that the *Gynostemma pentaphyllum* extract significantly improved the spermatogenesis process in stress-induced mice that received the extract. **Conclusions:** *Gynostemma pentaphyllum* extract attenuates the impact of heat stress on spermatogenesis in male mice by improving blood testosterone levels and spermatogenesis in the seminiferous tubules.

Keywords: *Gynostemma pentaphyllum*, herbs, heat stress, spermatogenesis.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) là một loài dược liệu quý thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae), phân bố rộng rãi tại Trung

Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc và các quốc gia Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam [1]. Có hơn 180 loại saponin được tìm thấy trong cây Giảo cổ lam, được gọi chung là gypenoside; trong đó nhiều thành phần

có cấu trúc giống với saponin của nhân sâm (*Panax ginseng*) [2]. Tám saponin của Giảo cổ lam có cấu trúc giống ginsenoside loại protopanaxadiol trong nhân sâm là Rb1 (Gypenoside III), Rc, Rb3 (Gypenoside IV), Rd (Gypenoside VIII), F2, Rg3, malonyl-Rb1 và malonyl-Rd [3].

Giảo cổ lam có tác dụng hạ đường huyết, chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan, giảm cholesterol và triglycerol trong máu [4]. Do có vai trò tương tự nhân sâm, trong khi quá trình trồng dễ hơn và thời gian thu hoạch ngắn hơn so với nhân sâm, nên Giảo cổ lam được xem là nguồn dược liệu thay thế nhân sâm đầy triển vọng [5].

Nhiệt độ tinh hoàn tối ưu cho quá trình sinh tinh là thấp hơn cơ thể từ 2 đến 4°C. Stress tăng nhiệt độ ở mô tinh hoàn mặc dù có thể trong giới hạn sinh lý nhưng vẫn có ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng tinh trùng. Nhiệt độ tinh hoàn tăng 1°C dẫn đến quá trình sinh tinh sụt giảm 14% [6]. Nhiệt độ cao của môi trường là yếu tố nguy cơ ảnh hưởng bất lợi đến mô tinh hoàn, quá trình sinh tinh, chất lượng tinh trùng và có thể dẫn đến tình trạng vô sinh nam. Có rất nhiều yếu tố có thể làm tăng nhiệt độ ở tinh hoàn. Các yếu tố này có thể được phân thành nhóm theo lối sống và các yếu tố hành vi, các yếu tố nghề nghiệp và môi trường, và các yếu tố lâm sàng do điều kiện bệnh lý. Tác hại của stress nhiệt đến khả năng sinh sản của nam giới có khuynh hướng tích lũy khi tiếp xúc nhiều lần trong một khoảng thời gian [6]. Một số nghiên cứu cho thấy stress nhiệt tác động liên tục làm ảnh hưởng đến quá trình sinh tinh với kết quả đường kính ống sinh tinh teo nhỏ, lòng chỉ chứa tế bào Sertoli, sự vô tổ chức và không có quá trình sinh tinh [7].

Tỷ lệ vô sinh ở Việt Nam khá cao, chiếm 8-10% ở các cặp vợ chồng đang ở độ tuổi sinh đẻ. Trong đó, vô sinh nam chiếm 30-40% trường hợp hiếm muộn. Nghiên cứu gần đây cho thấy chất lượng tinh trùng của đàn ông hiện nay đã giảm nhiều so với trước đây. Từ năm 1965 đến năm 2015, mật độ tinh trùng trung bình ở đàn ông đã giảm 32,5% sau 50 năm [8]. Việt Nam nằm trong vùng nhiệt đới gió mùa với nền nhiệt độ cao, từ năm 1970 đến năm 2011, trung bình mỗi năm ở Việt Nam có 246 ngày có nhiệt độ bằng hoặc cao hơn (1 đến 6°C) so với khuyến cáo của Bộ y tế về nhiệt độ tối đa của môi trường làm việc cho người lao động [9]. Kết quả này gợi ý cuộc sống ngày nay có nhiều yếu tố nguy cơ làm giảm khả năng sinh sản của nam giới.

Từ những vấn đề trên, Chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum*) lên quá trình phát sinh tinh ở chuột stress nhiệt độ cao nhằm nghiên

cứu tác động bảo vệ của dịch chiết cây Giảo cổ lam trước tác động làm suy giảm phát sinh tinh của stress nhiệt độ cao.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chuột đực trắng dòng Swiss được sử dụng làm mô hình gây stress nhiệt mãn tính mô tinh hoàn. Sau 5 tuần xử lý, mẫu máu và mô tinh hoàn được thu mẫu để đánh giá chức năng sinh sản và quá trình phát sinh tinh chuột đực mô hình.

Cây Giảo cổ lam tự nhiên được thu hái, sấy khô và chiết cao tổng số để đánh giá tác động của cao chiết đến chức năng sinh sản và quá trình phát sinh tinh ở chuột đực suy giảm chức năng sinh sản do nhiệt.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị cao chiết Giảo cổ lam

Tất cả bộ phận của cây Giảo cổ lam tự nhiên được rửa sạch, phơi khô đến khối lượng không đổi, xay thành bột và tiến hành chiết theo phương pháp chiết có siêu âm. Mẫu được chiết theo tỷ lệ 0,5 g khô trong 10 mL methanol 80% với máy siêu âm (S10H, Elmasonic) ở 40°C, thời gian 30 phút (lặp lại 3 lần); sau đó thu dịch lọc và để bay hơi đến khô để thu cao chiết [10]. Cao chiết được cân và tái hòa tan trong nước cất vô trùng và lọc qua giấy lọc, sau đó bảo quản ở 4°C để phục vụ cho chuột uống.

2.2.2. Phương pháp xử lý stress nhiệt

Thí nghiệm được tiến hành trên 30 con chuột đực trắng dòng Swiss 10-12 tuần tuổi, cân nặng 20-25 g được cung cấp bởi Viện Pasteur Nha Trang. Chuột được nuôi thích nghi tại phòng thí nghiệm trong 2 tuần, được phân bố ngẫu nhiên thành 6 nhóm, mỗi nhóm 5 con: Nhóm đối chứng (ĐC), nhóm chỉ uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg (GCL), nhóm xử lý nhiệt 40°C (N40), nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 100 mg/kg (N40+GCL100), nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg (N40+GCL200), nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 400 mg/kg (N40+GCL400). Nhóm có uống dịch chiết được uống 1 tuần trước khi xử lý nhiệt. Chuột được xử lý stress nhiệt bằng cách ngâm 1/3 thân dưới bao gồm bìu của chuột vào nước trong bể ổn nhiệt theo thứ tự nhiệt độ: nhóm chứng 25°C, nhóm stress nhiệt 40°C. Thời gian xử lý nhiệt: mỗi lần 10 phút, 2 lần mỗi ngày cách nhau 10 phút và 6 ngày mỗi tuần (nghỉ Chủ Nhật) trong 5 tuần liên tiếp [11]. Sau khi hoàn thành thời gian thí nghiệm xử lý nhiệt, tất cả chuột được gây chết và tiến hành thu mẫu máu và tinh hoàn.

2.2.3. Phương pháp xác định nồng độ testosterone

Sau 5 tuần xử lý nhiệt, chuột được gây chết, bọc lọ

vùng ngực và thu máu qua tim. Mẫu máu được thu vào ống máu chứa chất chống đông EDTA, sau đó được ly tâm 3000 vòng trong 5 phút để thu huyết tương. Huyết tương được sử dụng để xác định nồng độ testosterone bằng phương pháp ELISA sử dụng máy xét nghiệm miễn dịch tự động Cobas e411 (ROCHE).

2.2.4. Nhuộm Hematoxylin và Eosin

Mẫu mô tinh hoàn chuột sau khi cố định được chuyển đúc mẫu trong paraffin bằng hệ thống CITADEL 1000 (Thermo Scientific). Mẫu mô được cắt lát mỏng bằng máy cắt tiêu bản (LAICA, Đức). Tiêu bản mô học tinh hoàn chuột được nhuộm Hematoxylin và Eosin (Merck, USA). Kỹ thuật nhuộm Hematoxylin và Eosin được tiến hành gồm các bước theo hướng dẫn quy trình kỹ thuật giải phẫu bệnh-tế bào học của Bộ Y tế. Mẫu mô tinh hoàn sau khi lấy ra khỏi cơ thể chuột được ngâm vào dung dịch cố định formol đậm trung tính 4% trong 24 giờ. Mẫu mô được xử lý qua các công đoạn: khử nước bằng ethanol, khử

ethanol bằng xylene, vùi parafin để đúc khối, sau đó tiến hành cắt các mảnh mô với độ dày 5 µm và chuyển lên cố định trên lam kính tráng gelatin. Tiếp theo, mẫu mô được loại parafin bằng xylene, loại xylene bằng ethanol, loại ethanol bằng nước. Cuối cùng, mẫu mô được tiến hành nhuộm Hematoxylin và Eosin. Hình ảnh mô học được quan sát dưới kính hiển vi quang học để phân tích mô bệnh học.

2.2.5. Phương pháp đánh giá mô học ống sinh tinh theo Johnsen

Hình ảnh ống sinh tinh trong tiêu bản nhuộm H&E được đánh giá theo thang điểm Johnsen và cho điểm từ 1 đến 10 theo các tiêu chí sau (Bảng 1) [12]. Trong đó: có tinh trùng trong lòng ống được đánh giá điểm 10, 9 hoặc 8; có tinh tử mà không có tinh trùng được đánh giá điểm 7 hoặc 6; chỉ có tinh bào 1 và 2 được đánh giá điểm 5 hoặc 4; chỉ có tinh nguyên bào được đánh giá điểm 3; chỉ có tế bào Sertoli được đánh giá điểm 2; không có tế bào nào được đánh giá điểm 1.

Bảng 1. Thang điểm Johnsen đánh giá mô học ống sinh tinh.

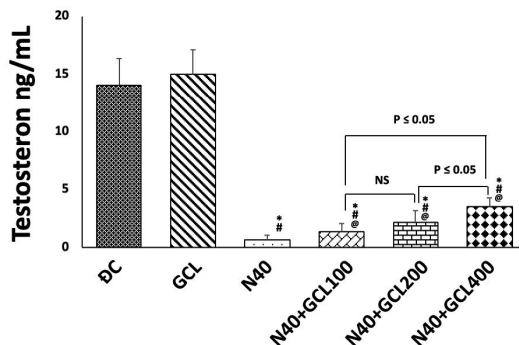
Điểm	Mô tả
10	Quá trình sinh tinh hoàn toàn với các tế bào tinh trùng trưởng thành.
9	Lớp biểu mô mất tính trật tự, có tinh trùng.
8	Có một ít tinh trùng (từ 5 đến 10).
7	Không có tinh trùng, có tinh tử (spermatids).
6	Không có tinh trùng, có một ít tinh tử (từ 5 đến 10).
5	Không có tinh trùng và tinh tử, có các tinh bào (spermatocytes).
4	Không có tinh trùng và tinh tử, có một ít tinh bào (<5).
3	Chỉ có tinh nguyên bào (spermatogonia).
2	Chỉ có tế bào Sertoli.
1	Không có tế bào ở trong lòng ống sinh tinh.

2.2.6. Xử lý thống kê

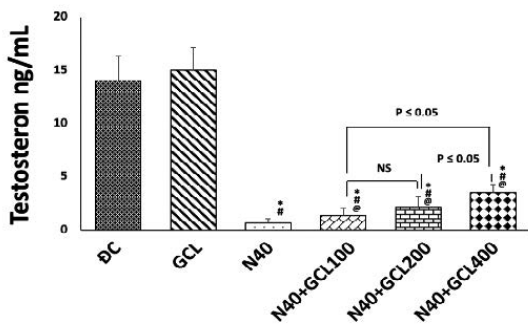
Các thí nghiệm nuôi cấy được bố trí ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được tính trung bình và phân tích ANOVA bằng Duncan’s test với $p < 0,05$ sử dụng phần mềm SPSS ver 20.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Ảnh hưởng của cao chiết Giảo cổ lam đến khả năng cải thiện nồng độ testosterone



Nồng độ testosterone trong máu chuột nhóm đối chứng ở mức $14,03 \pm 2,31$ ng/mL. Chuột uống dịch chiết Giảo cổ lam (200mg/kg) có nồng độ testosterone trong máu có xu hướng cao hơn, tuy nhiên không đạt mức có ý nghĩa thống kê ($15,01 \pm 2,10$ ng/mL). Chuột xử lý nhiệt 40°C trong 5 tuần làm cho nồng độ testosterone trong máu giảm mạnh ($0,66 \pm 0,41$ ng/mL). Chuột uống cao chiết Giảo cổ lam 100 mg/kg cải thiện nồng độ testosterone trong máu ($1,39 \pm 0,67$), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chỉ xử lý nhiệt. Nhóm chuột xử lý nhiệt có uống cao chiết Giảo cổ lam 200 mg/kg có nồng độ testosterone trong máu là $2,17 \pm 1,01$ ng/mL, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chỉ xử lý nhiệt, tuy nhiên chưa đạt đến mức có ý nghĩa thống kê so với nhóm uống cao chiết 100 mg/kg. Nhóm chuột xử lý nhiệt có uống cao chiết từ cây Giảo cổ lam tự nhiên 400 mg/kg có nồng độ testosterone trong máu là $3,55 \pm 0,74$ ng/mL, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chỉ xử lý nhiệt hay kết hợp uống cao chiết 100 mg/kg và 200 mg/kg. Tuy nhiên, mức độ cải thiện chưa đạt đến mức không khác biệt thống kê so với nhóm đối chứng (Hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của dịch chiết giảo cổ lam lên nồng độ testosterone trong máu chuột xử lý nhiệt

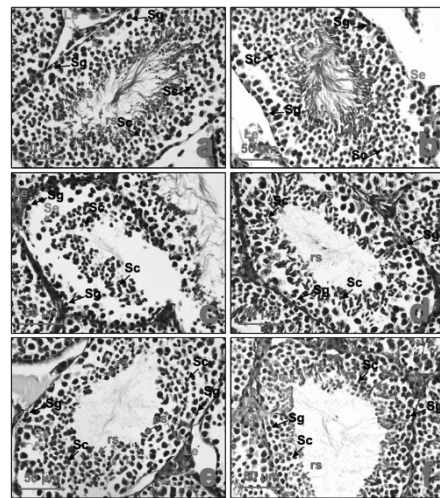
ĐC: Nhóm đối chứng, **GCL:** Nhóm uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg, **N40:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C , **N40+GCL100:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 100 mg/kg, **N40+GCL200:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg, **N40+GCL400:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 400 mg/kg; *: $p \leq 0.05$ so với nhóm ĐC, #: $p \leq 0.05$ so với nhóm GCL, @: $p \leq 0,05$ so với nhóm N40, **NS:** Không khác biệt có ý nghĩa thống kê

Ảnh hưởng của cao chiết đến khả năng cải thiện quá trình sinh tinh

Quá trình sinh tinh diễn ra bình thường trong lòng ống sinh tinh ở mô tinh hoàn chuột nhóm đối chứng và nhóm chỉ uống cao chiết Giảo cổ lam. Tinh nguyên bào (spermatocytes) xếp thành 1 hàng

sát với màng cơ bản của ống sinh tinh. Các tinh bào (spermatocytes) hướng vào trong lòng ống. Các tinh bào 1 giảm phân tạo ra các tinh tử tròn (round spermatids), sau đó biệt hóa thành tinh tử dài (elongating spermatids) tập trung trong lòng ống sinh tinh. Kết quả cuối cùng của quá trình biệt hóa tạo ra tinh trùng (spermatozoa). Tinh trùng sẽ di chuyển trong lòng ống sinh tinh đến tập trung ở mào tinh (Hình 2 a-b). Xử lý nhiệt ở nhiệt độ 40°C làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến quá trình sinh tinh. Trong lòng ống sinh tinh chỉ còn sự hiện diện của các tinh nguyên bào là các tế bào đầu dòng tinh, một số ít tinh bào và tế bào leydig là tế bào nuôi (Hình 2 c).

Chuột xử lý nhiệt có uống cao chiết Giảo cổ lam cải thiện quá trình sinh tinh, lòng ống sinh tinh có sự hiện diện của nhiều tế bào dòng tinh. Tuy nhiên, quá trình sinh tinh bị dừng lại ở giai đoạn tinh bào (spermatocytes) (Hình 2 e-f). Chuột uống cao chiết Giảo cổ lam 400 mg/kg cải thiện đáng kể quá trình sinh tinh diễn ra trong lòng ống sinh tinh. Số lượng tế bào dòng tinh trong lòng ống đã tăng lên đáng kể, đã quan sát thấy một số tế bào tinh tử tròn và tinh tử dài. Tuy nhiên rất khó để quan sát thấy tinh trùng trong lòng ống sinh tinh (Hình 2 f).

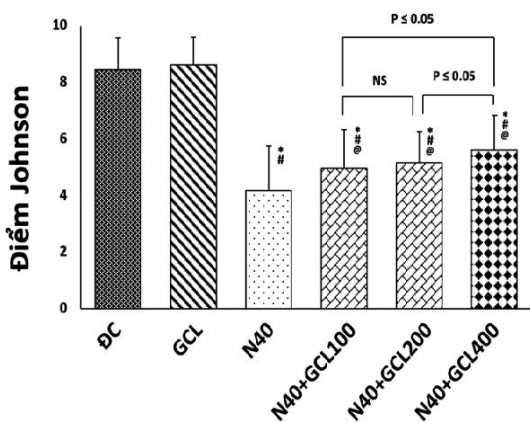


Hình 2. Ảnh hưởng của dịch chiết giảo cổ lam lên cấu trúc vi thể ống sinh tinh ở mô tinh hoàn chuột.

a. Quá trình phát sinh tinh bình thường diễn ra trong lòng ống sinh tinh chuột nhóm đối chứng, **b.** Ống sinh tinh chuột uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg, **c.** Ống sinh tinh chuột xử lý nhiệt 40°C , **d.** Ống sinh tinh chuột xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 100 mg/kg, **e.** Ống sinh tinh chuột xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg, **f.** Ống sinh tinh chuột xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 400 mg/kg;

Le (Leydig cells): tế bào leydig, **Se** (Sertoli cells): tế bào sertoli, **Sg** (Spermatogonia): tinh nguyên bào, **Sc** (Spermatocytes): tinh bào, **rs** (round spermatids): tinh tử tròn, **es** (elongating spermatids): tinh tử dài, **S** (Spermatozoa): tinh trùng

Kết quả đánh giá quá trình phát sinh tinh diễn ra trong lòng ống sinh tinh qua thang điểm Johnson được trình bày ở Hình 3. Chuột bình thường ở nhóm đối chứng có điểm Johnson là $8,46 \pm 1,13$. Nhóm chuột chỉ uống Giảo cổ lam không xử lý nhiệt có điểm Johnson là $8,62 \pm 0,99$, không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng. Xử lý nhiệt độ 40°C làm giảm mạnh điểm Johnson ($4,2 \pm 1,56$) so với nhóm đối chứng hay nhóm chỉ uống dịch chiết. Chuột xử lý nhiệt kết hợp với uống dịch chiết Giảo cổ lam (100, 200, và 400 mg/kg) làm tăng điểm Johnson có ý nghĩa thống kê so với nhóm chỉ xử lý nhiệt, điểm Johnson lần lượt là $4,98 \pm 1,36$; $5,18 \pm 1,08$ và $5,62 \pm 1,23$. Trong đó nhóm uống dịch chiết Giảo cổ lam 400 mg/kg có điểm Johnson cao nhất có ý nghĩa thống kê so với nhóm uống 100 hay 200 mg/kg. Tuy nhiên, các nhóm xử lý nhiệt kết hợp với uống dịch chiết có điểm Johnson thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng hay nhóm chie uống dịch chiết Giảo cổ lam.



Hình 3. Đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết giảo cổ lam lên mô học tinh hoàn chuột xử lý nhiệt thông qua thang điểm Johnson

ĐC: Nhóm đối chứng, **GCL:** Nhóm uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg, **N40:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C , **N40+GCL100:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 100 mg/kg, **N40+GCL200:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 200 mg/kg, **N40+GCL400:** Nhóm xử lý nhiệt 40°C và có uống dịch chiết giảo cổ lam 400 mg/kg; *: $p \leq 0,05$ so với nhóm ĐC, #: $p \leq 0,05$ so với nhóm GCL, @: $p \leq 0,05$ so với nhóm N40, NS: Không khác biệt có ý nghĩa thống kê

4. BÀN LUẬN

Yếu tố nhiệt tác động tiêu cực đến quá trình sinh tinh và các chỉ số tinh trùng như giảm số lượng tinh trùng, giảm khả năng vận động của tinh trùng và mật độ tinh trùng khi xuất tinh, giảm tỷ lệ hình thái tinh trùng bình thường dẫn đến giảm khả năng sống sót của tinh trùng, giảm tỉ lệ mang thai, giảm khả năng sinh sản, giảm tỉ lệ thành công của các kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm [13], [14]. Nghiên cứu của Sheynkin và cộng sự cho thấy việc tiếp xúc nhiệt lặp đi lặp lại có ảnh hưởng tiêu cực đến quá trình sinh tinh và sức khỏe sinh sản nam giới [15]. Nghiên cứu của Bujan và cộng sự cho thấy nhiệt độ biu tăng ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe sinh sản nam [16]. Nghiên cứu của Jung và cộng sự đã chỉ ra mối tương quan giữa tăng nhiệt độ biu và giảm chất lượng tinh dịch ở người [17].

Giảo cổ lam có vị đắng, tính ôn trung, bổ âm và trợ dương và là thuốc dùng tăng sức đề kháng với vi khuẩn và các tác nhân gây viêm. Giảo cổ lam được dùng trong các bệnh tăng lipid máu, đánh trống ngực, chứng chóng mặt, đau đầu, ù tai và chứng tự ra mồ hôi, cơ thể suy nhược, các chứng bệnh tâm tỳ khí kém, đàm huyết ứ trệ. Do đó, Giảo cổ lam đã được đưa vào hầu hết các từ điển thảo dược Trung Quốc dùng để giải độc, làm thuốc ho, điều trị triệu chứng đánh trống ngực, các triệu chứng mệt mỏi, viêm phế quản cấp và mãn tính [18].

Nghiên cứu tác dụng hạ cholesterol máu cho thấy dịch chiết nước của cây Giảo cổ lam có tác dụng giảm 71% lượng cholesterol trong chuột thí nghiệm [19]. Giảo cổ lam có tác dụng tăng đáp ứng miễn dịch trên chuột ở cả hai mô hình gây ức chế miễn dịch bằng cyclophosphamid và tia xạ [20]. Chiết xuất tự nhiên của Giảo cổ lam đã được nghiên cứu như một chất chống ung thư mạnh chống lại một số loại tế bào ung thư [21], [22].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy stress nhiệt ảnh hưởng tiêu cực đến cấu trúc vi thể mô tinh hoàn với sự biểu hiện thoái hóa và vô tổ chức của biểu mô tinh, mất hình ảnh cấu trúc tinh hoàn bình thường so với nhóm chứng. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây [23], [24]. Chuột ở nhóm thí nghiệm stress nhiệt có uống dịch chiết Giảo cổ lam cho thấy có sự cải thiện đáng kể quá trình sinh tinh thông qua việc cải thiện cấu trúc mô học ống sinh tinh.

Testosterone là hormone quan trọng trong sinh sản nam được sản xuất chủ yếu ở tế bào Leydig trong mô tinh hoàn, có chức năng chính là duy trì chức năng sinh sản của nam giới và thúc đẩy quá trình sinh tinh [25]. Nồng độ testosterone ở nam

giới có xu hướng giảm khi suy giảm chức năng sinh sản. Smith và cộng sự cho thấy cải thiện nồng độ testosterone bằng các loại thảo dược là lựa chọn điều trị tiềm năng trong suy giảm chức năng sinh sản [26]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy cao chiết của Giảo cổ lam giúp phục hồi khả năng sản xuất testosterone của chuột stress nhiệt.

Stress nhiệt ảnh hưởng nghiêm trọng đến cấu trúc mô học tinh hoàn và quá trình sinh tinh [27]. Stress nhiệt ảnh hưởng đến tất cả các tế bào trong mô tinh hoàn, đặc biệt là các tế bào dòng tinh. Cơ chế tác động chính của stress nhiệt liên quan đến quá trình gia tăng sản xuất các gốc oxy hóa tự do, chết lập trình và đứt gãy DNA [28]. Nghiên cứu của Kopalli và cs (2019) cho thấy nhân sâm Hàn Quốc với thành phần chính là Rg3 có tác dụng bảo vệ hệ thống sinh sản của chuột đực dưới tác dụng của stress nhiệt [29]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, cao chiết của Giảo cổ lam từ cây tự nhiên có tác

dụng bảo vệ cấu trúc vi thể mô tinh hoàn và tăng nồng độ testosterone ở chuột đực dưới tác động tiêu cực của stress nhiệt.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Cao chiết Giảo cổ lam giảm tác động làm suy giảm chức năng sinh sản trên chuột đực stress nhiệt thông qua cải thiện nồng độ Testosterone trong máu và bảo vệ quá trình phát sinh tinh trong lòng ống sinh tinh ở mô tinh hoàn chuột. Các nghiên cứu chuyên sâu về cơ chế sinh học phân tử và vai trò của các chất trong Giảo cổ lam lên hệ sinh sản nam cần được tiến hành để làm cơ sở cho việc sử dụng Giảo cổ lam như một vị thuốc bảo vệ hệ sinh sản nam.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả cảm ơn sự hỗ trợ của Nhóm nghiên cứu mạnh Y học tái tạo, Đại học Huế (NCM.DHH.2022.02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cui WY, Jin Y, Liu H, Zu ML, Zhai XF, Yang C, et al. Dammarane-type saponins from *Gynostemma pentaphyllum* and their cytotoxicities. *Natural Product Research*. 2020;1-9.
2. Chen PY, Chang CC, Huang HC, Zhang LJ, Liaw CC, Lin YC, et al. New Dammarane-type Saponins from *Gynostemma pentaphyllum*. *Molecules*. 2019;24(7).
3. Liu F, Ren D, Guo DA, Pan Y, Zhang H, Hu P. Method Development for Gypenosides Fingerprint by High Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection and the Addition of Internal Standard. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2008;56(3):389-93.
4. Bùi Đình Lãm, Nguyễn Thị Tình, Nguyễn Văn Duy, Nguyễn Văn Bảo, Lê Văn Hiền, Ngô Xuân Bình. Nghiên cứu khả năng nhân giống cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb) bằng phương pháp *in vitro*. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*. 2015;15:249-56.
5. Liang T, Zou L, Sun S, Kuang X, Wei J, Wang L, et al. Hybrid sequencing of the *Gynostemma pentaphyllum* transcriptome provides new insights into gypenoside biosynthesis. *BMC Genomics*. 2019;20(1):632.
6. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reproductive biomedicine online*. 2015; 30(1):14-27.
7. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Toxicol Ind Health*. 2013;29(2):99-113.
8. Sengupta P, Borges E, Jr., Dutta S, Krajewska-Kulak E. Decline in sperm count in European men during the past 50 years. *Hum Exp Toxicol*. 2018;37(3):247-55.
9. Sarah Opitz-Stapleton a, Lea Sabbag b, Kate Hawley a, Phong Tran c, Lan Hoang d, Phuong Hoang Nguyen d. Heat index trends and climate change implications for occupational heat exposure in Da Nang, Vietnam. *Climate Services*. 2016;2-3.
10. Wu Q, Jang M, Piao XL. Determination by UPLC-MS of four dammarane-type saponins from heat-processed *Gynostemma pentaphyllum*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014;78(2):311-6.
11. Perez-Crespo M, Pintado B, Gutierrez-Adan A. Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice. *Molecular reproduction and development*. 2008;75(1):40-7.
12. Johnsen SG. Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*. 1970;1(1):2-25.
13. Zhang MH, Zhai LP, Fang ZY, Li AN, Xiao W, Qiu Y. Effect of scrotal heating on sperm quality, seminal biochemical substances, and reproductive hormones in human fertile men. *Journal of cellular biochemistry*. 2018;119(12):10228-38.
14. Rao M, Xia W, Yang J, Hu LX, Hu SF, Lei H, et al. Transient scrotal hyperthermia affects human sperm DNA integrity, sperm apoptosis, and sperm protein expression. *Andrology*. 2016;4(6):1054-63.
15. Sheynkin Y, Jung M, Yoo P, Schulsinger D, Komaroff E. Increase in scrotal temperature in laptop computer users. *Hum Reprod*. 2005;20(2):452-5.
16. Bujan L, Daudin M, Charlet JP, Thonneau P,

Mieusset R. Increase in scrotal temperature in car drivers. Hum Reprod. 2000;15(6):1355-7.

17. Jung A, Schuppe HC. Influence of genital heat stress on semen quality in humans. Andrologia. 2007;39(6):203-15.

18. Viện Dược Liệu. Cây thuốc Việt Nam. Hà Nội: NXB Khoa Học kỹ thuật; 1996.

19. Nguyễn Tiến Dẫn, Phạm Thanh Kỳ, Nguyễn Khắc Viện. Kết quả bước đầu về nghiên cứu tác dụng hạ cholesterol máu của cây thất diệp đởm (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino). Tạp chí Dược liệu. 2000;5(1):15-6.

20. Phạm Thanh Kỳ, Phan Thị Thu Anh, Phan Thị Phi Phi. Nghiên cứu tác dụng tăng đáp ứng miễn dịch của dược liệu Giảo cổ lam - *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. Tạp chí Thông tin Y dược. 2007;5:35-8.

21. Wang TX, Shi MM, Jiang JG. Bioassay-guided isolation and identification of anticancer and antioxidant compounds from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. RSC Advances. 2018;8(41):23181-90.

22. Xing SF, Liu LH, Zu ML, Lin M, Zhai XF, Piao XL. Inhibitory Effect of Damulin B from *Gynostemma pentaphyllum* on Human Lung Cancer Cells. Planta Medica. 2019;85(5):394-405.

23. Paul C, Teng S, Saunders PT. A single, mild, transient scrotal heat stress causes hypoxia and oxidative stress in

mouse testes, which induces germ cell death. Biology of reproduction. 2009;80(5):913-9.

24. Delkhosh A, Shoorei H, Niazi V, Delashoub M, Gharamaleki MN, Ahani-Nahayati M, et al. Coenzyme Q10 ameliorates inflammation, oxidative stress, and testicular histopathology in rats exposed to heat stress. Human & experimental toxicology. 2020;960327120940366.

25. Gurung P, Yetiskul E, Jialal I. Physiology, Male Reproductive System. StatPearls. Treasure Island (FL)2021.

26. Smith SJ, Lopresti AL, Teo SYM, Fairchild TJ. Examining the Effects of Herbs on Testosterone Concentrations in Men: A Systematic Review. Advances in nutrition. 2021;12(3):744-65.

27. Tung NT, Phuoc DV, Thuan DC, Tam LM, Quoc Huy NV. Assessment of testis histopathological changes and spermatogenesis in male mice exposed to chronic scrotal heat stress. Journal of Animal Behaviour and Biometeorology. 2020;8:174-80.

28. Shahat AM, Rizzoto G, Kastelic JP. Amelioration of heat stress-induced damage to testes and sperm quality. Theriogenology. 2020;158:84-96.

29. Kopalli SR, Cha KM, Hwang SY, Jeong MS, Kim SK. Korean Red Ginseng (*Panax ginseng* Meyer) with enriched Rg3 ameliorates chronic intermittent heat stress-induced testicular damage in rats via multifunctional approach. Journal of ginseng research. 2019;43(1):135-42.