

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG MÔ HÌNH GÂY SUY GIẢM SINH SẢN TRÊN THỎ BẰNG FLUCONAZOL VÀ ÁP DỤNG ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA VIÊN NANG TXCB

Vũ Ngọc Thắng^{1,*}, Nguyễn Hoàng Ngân¹, Trần Văn Tính², Nguyễn Minh Phương^{1,**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng được mô hình gây suy giảm sinh sản trên thỏ đực bằng fluconazol và bước đầu áp dụng đánh giá tác dụng của viên nang Trường Xuân CB (TXCB). **Phương pháp:** 24 thỏ đực được chia ngẫu nhiên vào 3 lô: lô chứng (không uống fluconazol), lô uống fluconazol liều 50 mg/kg trong 30 ngày và lô uống fluconazol liều 50 mg/kg và viên nang TXCB liều 180 mg/kg trong 30 ngày sau đó uống viên nang TXCB với liều trên trong 30 ngày nữa. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: thể tích tinh dịch (EV), pH tinh dịch, tinh dịch đồ, thời gian phản ứng, nồng độ testosterone huyết thanh (ST), tiêu bản tinh hoàn. **Kết quả:** Ở lô mô hình có sự tăng đáng kể ($p < 0,05$) về RT, SIM, DS và AS so với lô chứng, đồng thời EV, SC, TSM, PSM, TSO và ST giảm có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với lô chứng. Ở lô trị, các chỉ số RT, EV, SC, TSO, TSM, PSM, SIM, DS, AS và ST đã được phục hồi. Trên mô học tinh hoàn, có hình ảnh suy giảm sinh tinh ở lô mô hình. **Kết luận:** Xây dựng được mô hình gây suy giảm sinh sản trên thỏ đực bằng cách uống fluconazol liều 50 mg/kg trong 30 ngày. Bước đầu cho thấy viên nang TXCB làm phục hồi RT, ST và một số chỉ tiêu về tinh dịch trên mô hình thỏ gây suy giảm sinh sản bằng fluconazol.

Từ khóa: Fluconazol; Mô hình sinh sản; suy giảm sinh sản; thỏ đực.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay càng nhiều nam giới có vấn đề về sức khỏe sinh sản và sức khỏe tình dục, theo các nghiên cứu thì có khoảng 20- 30% nam giới trưởng thành có ít nhất một rối loạn chức năng sinh sản, sinh dục (khá thường xuyên, thường xuyên, gần như luôn luôn và luôn luôn) [1]. Do vậy nghiên cứu sản xuất ra các sản phẩm nhằm phục hồi hoặc giảm bớt

sự suy giảm khả năng sinh sản nam rất được quan tâm. Cho đến nay, ở trong và ngoài nước, khi nghiên cứu tác dụng của thuốc trên khả năng sinh sản mô hình được nhiều nhà nghiên cứu lựa chọn là gây suy giảm sinh sản trên chuột cống bằng natri valproat [2], [3]. Với mô hình này, các chỉ số nghiên cứu về tinh dịch chuột chỉ được lấy ở thời điểm cuối cùng của thí nghiệm, không thấy được sự khác nhau giữa các thời điểm nghiên cứu và phải giết chuột. Hơn nữa, natri valproat gây suy giảm sinh sản theo cơ chế nào thì vẫn chưa được rõ nên khó xác định cơ chế tác dụng của thuốc nghiên cứu. Do vậy, xây dựng mô hình thực nghiệm phù hợp hơn, khắc phục được những hạn chế trên là việc làm cần thiết. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng mô hình gây suy giảm sinh

¹ Học viện Quân y

² Bệnh viện 198- Bộ Công an

* Tác giả thực hiện chính

Vũ Ngọc Thắng

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học

Nguyễn Minh Phương

Email: phuongk21@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 1/8/2020

Ngày phản biện: 20/8/2020

Ngày chấp nhận đăng: 22/9/2020

sản trên thỏ và ứng dụng đánh giá tác dụng của viên nang TXCB.

2. VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

* **Vật liệu nghiên cứu:** Viên nang TXCB (đạt tiêu chuẩn cơ sở), là sản phẩm của đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh Cao Bằng; được sản xuất tại Trung tâm nghiên cứu ứng dụng sản xuất thuốc- Học viện Quân y.

Thành phần của viên nang TXCB gồm: Bột cao khô tảo dương 75 mg; bột cao khô hỗn hợp 6 dược liệu (ba kích, dâm dương hoắc, câu kỷ tử, sâm cau, ngưu đại lực, thạch斛 tía) 310 mg; bột cao khô lộc nhung 15 mg; tá dược vừa đủ 1 viên 450 mg.

* Động vật nghiên cứu

Thỏ New Zealand đực, trưởng thành, khỏe mạnh cân nặng từ $2,5 \pm 0,2$ kg. Thỏ được nhốt riêng trong điều kiện phòng thí nghiệm. Thức ăn dạng pellet, uống nước tự do. Thỏ được nuôi ổn định trong 2 tuần trước khi nghiên cứu và được tập (lấy tinh dịch) với âm đạo giả trong 2 tuần với tần suất 2 lần/tuần.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Thiết kế nghiên cứu

24 thỏ đực được chia ngẫu nhiên vào 3 lô.

- Lô chứng: uống dung môi pha thuốc natri carboxymethyl cellulose (Na CMC) 2,0%.

- Lô mô hình: uống fluconazol (đạt tiêu chuẩn USP 40, Synergene, Ấn Độ) trong Na CMC 2,0% liều 50 mg/kg cân nặng/ngày trong 30 ngày.

- Lô trị: uống fluconazol trong Na CMC 2,0% liều 50 mg/kg cân nặng/ngày và uống viên nang TXCB liều 180 mg/kg cân nặng/ngày trong 30 ngày sau đó uống tiếp viên nang TXCB liều như trên trong 30 ngày.

* Chỉ số nghiên cứu

Các mẫu tinh dịch được lấy vào buổi sáng tại 3 thời điểm (trước khi cho thỏ uống thuốc, sau 30 ngày uống thuốc và sau 60 ngày), sử

dụng một thỏ cái và âm đạo giả. Mẫu tinh dịch sau khi lấy được chuyển ngay đến phòng thí nghiệm để phân tích.

- Thời gian phản ứng (RT) là thời gian (giây) kể từ khi thả thỏ cái vào chuồng thỏ đực đến khi thỏ đực có động tác nhảy lên lưng con cái để thực hiện hành vi giao phối.

- Thể tích tinh dịch (EV) được đo trực tiếp bằng ống thu tinh. Tinh dịch sau khi được phóng vào âm đạo giả, chúng tôi tiến hành thu lấy trực tiếp. Âm đạo giả được lựa chọn là loại âm đạo có phủ silicon chống bám dính nên phần tinh dịch lưu lại không đáng kể và được bỏ qua.

- pH tinh dịch được xác định bằng giấy đo pH (pH- indicator strips (pH 6,5- 10,0, Special Indicato), công ty Merck, Đức).

- Mật độ tinh trùng (SC), tỉ lệ tinh trùng di động (TSM), tỉ lệ tinh trùng di động tiến tới (PSM), tỉ lệ tinh trùng di động không tiến tới (NPSM), tỉ lệ tinh trùng không di động (SIM) được phân tích tự động bằng máy (QwikCheck™ Gold, Isarel kèm theo E-capillary).

- Tổng số tinh trùng trong 1 lần xuất tinh (TSO) được tính bằng thể tích (mL) x mật độ (triệu tinh trùng/mL).

- Lấy 50 μ L tinh dịch, tiến hành nhuộm eosin – nigrosin (eosin Y và nigrosin- Sigma Aldrich, Đức) để đánh giá tỉ lệ tinh trùng chết (DS); nhuộm Papanicolaou (Papanicolaou solution, Hematoxylin solution, Merck, Đức) trên máy nhuộm tự động (Leica Autostainer XL ST5010, Đức) để đánh giá tỉ lệ tinh trùng có hình thái cấu trúc bất thường (AS) trên kính hiển vi huỳnh quang độ phóng đại X100 (Nikon Eclipse Ti2, Nhật Bản). Quy trình nhuộm theo hướng dẫn của WHO năm 2010 [4].

- Nồng độ testosterone: Sau khi lấy tinh, lấy các mẫu máu từ tĩnh mạch tai thỏ vào ống tách huyết thanh, để yên trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, ly tâm ở 3000 vòng trong 15 phút,

tách lấy huyết thanh và bảo quản ở -80°C (tủ âm sâu Panasonic MDF- U33V- PB, Nhật Bản) đến khi phân tích. Xác định nồng độ testosterone (ST) bằng kit ELISA (EliKine™ Testosterone ELISA Kit, Abbkine) trên máy đọc Chromate 4300 (Awareness Technology, Mỹ).

- Mô bệnh học: Kết thúc thí nghiệm, phẫu tích thỏ để lấy tinh hoàn làm tiêu bản mô bệnh học tinh hoàn.

2.3. Phân tích số liệu

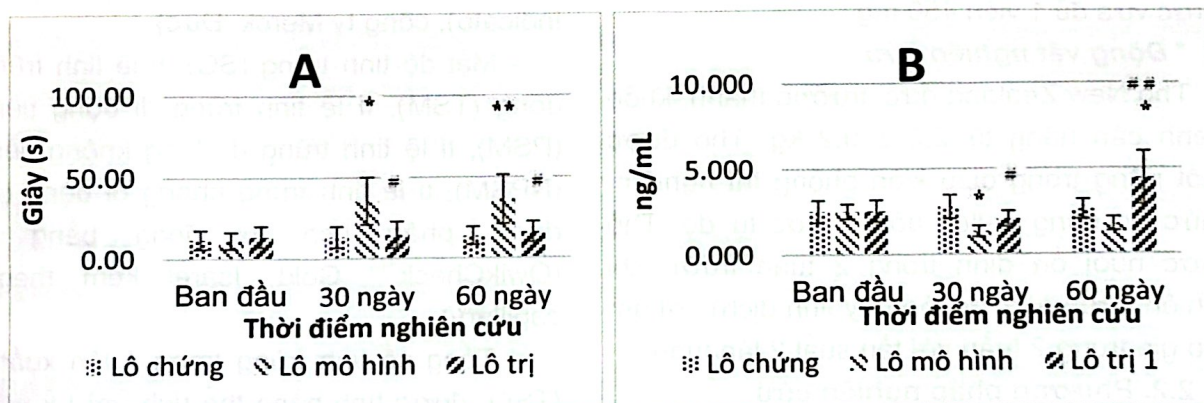
Các số liệu biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). So sánh sự khác biệt giữa các lô sử dụng One-way ANOVA với Post Hoc least-significant differences (LSD)

Test. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Các kết quả xử lý được tính trên phần mềm IBM SPSS Statistics 20.

3. KẾT QUẢ

3.1. Thời gian phản ứng

Ở thời điểm 30 ngày, RT của lô mô hình ($35,38 \pm 14,62$) tăng có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với lô chứng ($13,25 \pm 6,50$), đồng thời RT của lô trị là $14,38 \pm 8,18$ thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô mô hình. Ở thời điểm 60 ngày, RT của lô mô hình cũng cao hơn có ý nghĩa ($p < 0,001$) so với lô chứng và cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô trị (Hình 3.1-A).



Hình 3.1. RT (hình A); ST (hình B) của các lô nghiên cứu tại các thời điểm

$n = 8$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,001$ so với lô chứng, #: $p < 0,05$, ##: $p < 0,001$ so với lô mô hình.

3.2. Nồng độ testosterone huyết thanh

Ở thời điểm 30 ngày, ST của lô mô hình ($1,349 \pm 0,326$) thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô chứng ($2,794 \pm 0,693$), đồng thời cũng thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô trị ($2,080 \pm 0,462$). Ở thời điểm 60 ngày, ST của lô trị ($4,427 \pm 1,541$) cao hơn đáng kể ($p < 0,001$) so với lô mô hình ($1,749 \pm 0,407$) đồng thời cũng cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô chứng ($2,618 \pm 0,585$) (Hình 3.1-B).

3.3. Đặc điểm tinh dịch thỏ

Kết quả về đặc điểm tinh dịch thỏ ở các thời điểm được trình bày trong các bảng sau. Bảng 3.1 cho thấy, không có sự khác biệt có

ý nghĩa ($p > 0,05$) về các chỉ số của đặc điểm tinh dịch thỏ ở thời điểm trước khi uống thuốc.

Ở thời điểm 30 ngày sau khi uống thuốc; DS và AS của lô mô hình lần lượt là: $36,50 \pm 8,53$ và $26,44 \pm 5,28$ tăng có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với lô chứng (lần lượt là: $26,94 \pm 5,80$ và $16,34 \pm 3,91$). Đồng thời, EV, SC và TSO giảm có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với lô chứng. Kết quả tương ứng của lô mô hình là: $0,46 \pm 0,14$; $157,99 \pm 17,14$ và $74,33 \pm 28,66$; của lô chứng là $0,71 \pm 0,18$; $205,23 \pm 21,49$ và $146,25 \pm 42,32$. Ở lô trị, cũng ghi nhận thấy sự giảm có ý nghĩa của SC và TSO so với lô chứng.

Bảng 3.1. Các chỉ số nghiên cứu ở thời điểm trước khi uống thuốc

Chỉ tiêu đánh giá	Lô chứng (n = 8)	Lô mô hình (n = 8)	Lô trị (n = 8)
EV (mL)	0,69 ± 0,20	0,72 ± 0,20	0,71 ± 0,19
pH tinh dịch	7,21 ± 0,16	7,25 ± 0,16	7,18 ± 0,14
SC (TT x 10 ⁶ /mL)	220,75 ± 14,65	228,98 ± 11,39	225,36 ± 9,10
TSO (TT x 10 ⁶)	151,80 ± 38,76	165,82 ± 52,02	159,95 ± 44,96
TSM (%)	30,00 ± 11,03	33,13 ± 12,19	29,13 ± 7,43
PSM (%)	27,13 ± 10,55	29,75 ± 12,29	26,25 ± 6,94
NPSM (%)	2,88 ± 0,83	3,38 ± 0,52	2,88 ± 0,64
SIM (%)	70,00 ± 11,03	66,88 ± 12,19	70,88 ± 7,43
DS (%)	27,63 ± 6,91	26,09 ± 6,44	26,28 ± 7,84
AS (%)	16,41 ± 3,46	16,88 ± 4,55	17,75 ± 5,91

Ghi chú: Ở các chỉ số, p giữa các lô đều lớn hơn 0,05.

Bảng 3.2. Các chỉ số nghiên cứu ở thời điểm sau 30 ngày

Chỉ tiêu đánh giá	Lô chứng (n = 8)	Lô mô hình (n = 8)	Lô trị (n = 8)
EV (mL)	0,71 ± 0,18	0,46* ± 0,14	0,64 [#] ± 0,13
pH tinh dịch	7,29 ± 0,16	7,33 ± 0,14	7,25 ± 0,16
SC (TT x 10 ⁶ /mL)	205,23 ± 21,49	157,99* ± 17,14	166,19 ± 31,62
TSO (TT x 10 ⁶)	146,25 ± 42,32	74,33** ± 28,66	104,92 ± 26,88
TSM (%)	32,75 ± 5,95	28,38 ± 10,39	38,25 [#] ± 8,10
PSM (%)	29,75 ± 5,34	25,50 ± 10,16	34,75 [#] ± 7,50
NPSM (%)	3,00 ± 0,76	2,88 ± 0,64	3,50 ± 0,93
SIM (%)	67,25 ± 5,95	71,63 ± 10,39	61,75 [#] ± 8,10
DS (%)	26,94 ± 5,80	36,50* ± 8,53	23,88 [#] ± 6,63
AS (%)	16,34 ± 3,91	26,44* ± 5,28	20,06 [#] ± 6,37

Ghi chú: *p < 0,05; **p < 0,001 so với lô chứng; [#]p < 0,05 so với lô mô hình.

Tuy nhiên, lại có sự giảm đáng kể của SIM, DS và AS đồng thời tăng đáng kể EV, TSM và PSM so với lô mô hình.

Tại thời điểm sau 60 ngày, khi so sánh lô mô hình với lô chứng thấy có sự tăng đáng kể của SIM, DS và AS đồng thời có sự giảm đáng kể của EV, TSO, TSM và PSM so với lô chứng. Ở lô trị, khi so với lô mô hình có sự giảm đáng kể của SIM, DS, AS và có sự tăng

đáng kể của EV, SC, TSO, TSM, PSM.

Không có sự khác biệt có ý nghĩa về pH tinh dịch và NPSM giữa các lô ở các thời điểm nghiên cứu.

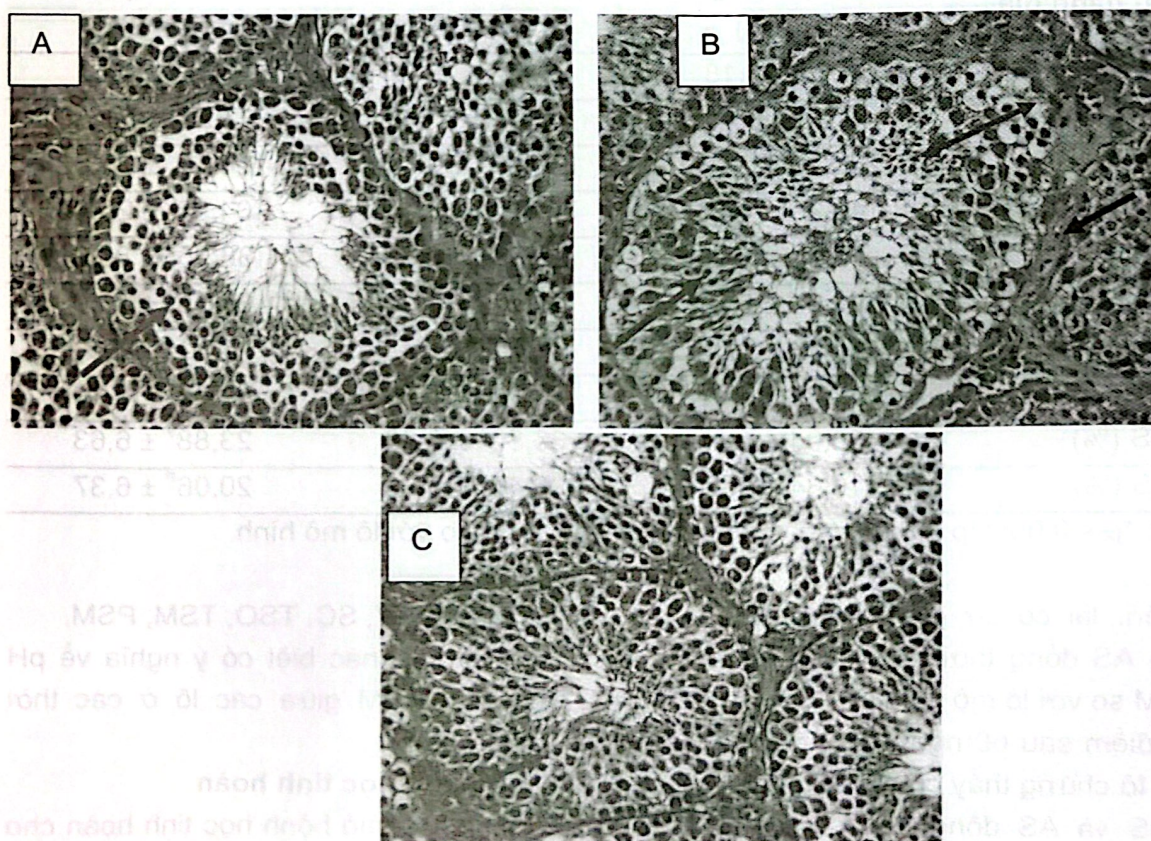
3.4. Mô bệnh học tinh hoàn

Trên hình ảnh mô bệnh học tinh hoàn cho thấy, ở lô chứng và lô dùng thuốc (lô 3) có hình ảnh tinh hoàn bình thường; các ống sinh tinh khá đều nhau,

Bảng 3.3. Các chỉ số nghiên cứu ở thời điểm sau 60 ngày

Chỉ tiêu đánh giá	Lô chứng (n = 8)	Lô mô hình (n = 8)	Lô trị (n = 8)
EV (mL)	0,70 ± 0,17	0,50* ± 0,13	0,68 [#] ± 0,17
pH tinh dịch	7,21 ± 0,16	7,25 ± 0,16	7,25 ± 0,16
SC (TT x 10 ⁶ /mL)	205,44 ± 36,83	174,45 ± 27,60	206,63 [#] ± 24,68
TSO (TT x 10 ⁶)	144,38 ± 47,59	85,09* ± 18,09	137,61 [#] ± 27,62
TSM (%)	33,75 ± 9,05	22,25* ± 9,54	34,75 [#] ± 6,11
PSM (%)	30,63 ± 8,63	19,63* ± 8,72	31,50 [#] ± 5,83
NPSM (%)	3,13 ± 0,64	2,63 ± 0,92	3,25 ± 0,46
SIM (%)	66,25 ± 9,05	77,75* ± 9,54	65,25 [#] ± 6,11
DS (%)	27,50 ± 9,26	39,84* ± 9,47	23,50 [#] ± 6,92
AS (%)	17,28 ± 5,72	25,59* ± 7,47	17,66 [#] ± 4,53

Ghi chú: *p < 0,05; **p < 0,001 so với lô chứng; [#]p < 0,05; ^{##}p < 0,001 so với lô mô hình.

**Hình 2.** Hình ảnh mô bệnh học tinh hoàn. HE, 400X.

A: lô chứng; B: lô mô hình; C: lô dùng thuốc

Các ống sinh tinh trong lòng có chứa nhiều tinh trùng có đuôi rõ (mũi tên xanh). Thành ống sinh tinh có đầy đủ các tế bào dòng tinh: tế bào Sertoli, tinh nguyên bào, tinh bào 1, tinh bào 2 và tiền tinh trùng. Rải rác một số nhân chia.

Ở lô mô hình có hình ảnh suy giảm sinh tinh (Jonhson score 8): Các ống sinh tinh trong lòng có chứa ít tinh trùng (mũi tên xanh). Thành ống sinh tinh có các tế bào dòng tinh với số lượng ít (mũi tên đỏ): tế bào Sertoli, tinh nguyên bào, tinh bào 1, tinh bào 2 và tiền tinh trùng. Không thấy hình nhân chia. Một số ống sinh tinh có các tế bào dòng tinh bị thoái hóa (mũi tên đen).

4. BÀN LUẬN

Fluconazol là thuốc chống nấm nhóm azo đã được chứng minh làm suy giảm khả năng sinh sản, có tác dụng kháng androgen [5], giảm nồng độ testosterone trong máu do ức chế sự sinh tổng hợp testosterone ở tế bào Leydig [6]. Ngoài ra còn làm giảm nồng độ cortisol thông qua việc ức chế các enzym thuộc hệ thống cytochrom P450 như: C17-20 lyase, 11- μ -hydroxylase, 17- μ -hydroxylase và steroid aromatase [5]. Kết quả trên cũng cho thấy fluconazol làm giảm khả năng sinh sản, giảm nồng độ testosterone khi nghiên cứu trên thỏ. Testosterone được coi là điều kiện tiên quyết cho sự sản xuất và trưởng thành của tinh trùng, các đặc tính và chức năng sinh dục thứ cấp. Testosterone kích hoạt các receptor của androgen (AR) trong các tế bào Sertoli để bắt đầu các đáp ứng chức năng cần thiết cho sự sinh tinh trùng [7]. Mặt khác testosterone phối hợp với FSH để kích thích tăng sinh tế bào Sertoli và tạo ra các phân tử tín hiệu và chất dinh dưỡng để hỗ trợ sự trưởng thành của tinh trùng [8]. Như vậy cơ chế của việc giảm số lượng và chất lượng tinh trùng thỏ ở lô mô hình có thể do giảm nồng độ testosterone trong máu.

Sự sinh tinh là một quá trình từ tinh nguyên bào, tinh bào 1, tinh bào 2, tiền tinh trùng rồi đến tinh trùng. Ở thỏ, quá trình này có thể từ 52- 60 ngày [10]. Do đó khi thuốc tác động vào quá trình sinh tinh có thể gây ra biểu hiện sớm lên đặc điểm tinh dịch khi tác động vào giai đoạn cuối của quá trình sinh tinh nhưng cũng có thể chưa gây ra biểu hiện ngay lập tức nếu tác động vào giai đoạn đầu của quá trình sinh tinh. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, ở thời điểm 30 ngày tại lô mô hình SC và ST thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với lô chứng, tuy nhiên ở thời điểm 60 ngày các chỉ số này khác nhau không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với lô chứng. Ở chiều ngược lại, các chỉ số TSM và PSM của lô mô hình ở thời điểm 30 ngày khác nhau không có ý nghĩa ($p > 0,05$) so với lô chứng tuy nhiên ở thời điểm 60 ngày lại thấp hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với lô chứng. Như vậy, có thể fluconazol đã tác động đến nhiều giai đoạn của quá trình sinh tinh. Do đó nếu chỉ lấy và phân tích tinh dịch ở một thời điểm (như các mô hình nghiên cứu trên chuột) thì không thể phát hiện được những sự thay đổi này.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy, viên nang TXCB đã làm tăng nồng độ testosterone trong máu, phục hồi được các chỉ số RT, EV, SC, TSO, TSM, PSM, SIM, DS và AS khi bị thay đổi bởi fluconazol. Viên nang TXCB được bào chế từ các dược liệu: Tỏa dương, thạch斛, lộc nhung, ngư đại lực, sâm cau, dâm dương hoắc, ba kích và câu kỷ tử. Các dược liệu này đã được chứng minh có tác dụng làm tăng nồng độ testosterone máu [11] chống oxy hóa [12] và làm tăng số lượng, chất lượng tinh trùng cải thiện khả năng cương dương [13], có thể phục hồi được các rối loạn chức năng tinh hoàn do lão hóa [14], [15].

5. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được mô hình suy giảm sinh sản trên thỏ đực bằng fluconazol. Theo đó,

thỏ đực được gây suy giảm sinh sản bằng cách uống fluconazol liều 50 mg/kg trong 30 ngày. Đã áp dụng đánh giá tác dụng của viên nang TXCB, bước đầu cho thấy chế phẩm có tác dụng phục hồi một số chỉ số về sinh sản, sinh dục đực.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Đơn vị hỗ trợ sinh sản (Trung tâm huyết học truyền máu - Bệnh viện 198), Bộ môn Dược lý (Học viện Quân y) đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ronald W. L., Kerstin S. F. M., Giovanni C., et al. (2010)**, Definitions/epidemiology/risk factors for sexual dysfunction. The journal of sexual medicine, 7(4pt2): 1598-1607.
2. **Dương Thị Ly Hương (2012)**, Nghiên cứu tác dụng lên chức năng sinh sản và độc tính của rễ Bá bệnh (Euricoma Longifolia J.) thu hái tại Việt Nam trên động vật thực nghiệm, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội.
3. **Đậu Thùy Dương, Nguyễn Trần Thị Giáng Hương, Lê Minh Hà, et al. (2014)**, Tác dụng bảo vệ của chế phẩm OS35 trên cơ quan sinh sản của chuột cống đực gây suy giảm sinh sản bằng natri valproat. Tạp chí Nghiên cứu y học, 90(5): 51-58.
4. **World Health Organization (2010)**, WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen.
5. **European Medicines Agency (2015)**, Withdrawal Assessment report: Ketoconazole AID-SCFM; International non-proprietary name: ketoconazole.
6. **Schürmeyer Th. and Nieschlag E. (1984)**, Effect of ketoconazole and other imidazole fungicides on testosterone biosynthesis. European Journal of Endocrinology, 105(2): 275-280.
7. **Michelle W., Philippa T. K. S., Nina A., et al. (2009)**, Androgen action via testicular peritubular myoid cells is essential for male fertility. The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 23(12): 4218-4230.
8. **Ilpo H. (2010)**, A hormonal contraceptive for men: how close are we?, In: Book A hormonal contraceptive for men: how close are we?, Elsevier, 273-288.
9. **Semet. M., Paci M., Saias-Magnan J., et al. (2017)**, The impact of drugs on male fertility: a review. Andrology, 5(4): 640-663.
10. **Swierstra E.E. and Foote R.H. (1965)**, Duration of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes, DNA synthesis and labeling with tritiated thymidine. American Journal of Anatomy, 116(2): 401-411.
11. **Nguyễn Thị Liên, Trần Thị Thu Trang, Hoàng Thị Thanh Thảo, et al. (2020)**, Nghiên cứu tác dụng hướng sinh dục nam của cao ba kích trên thực nghiệm. Tạp chí Dược học, 3(60):
12. **She G. M., Zhang Y. J. and Yang C. R. (2009)**, Phenolic Constituents from Balanophora laxiflora with DPPH Radical Scavenging Activity. Chemistry & Biodiversity, 6(8): 75-88.
13. **Thakur M., Thompson D., Connellan P., et al. (2011)**, Improvement of penile erection,

sperm count and seminal fructose levels in vivo and nitric oxide release in vitro by ayurvedic herbs. *Andrologia*, 43(273–277).

14. Zhao H., Song L., Huang W., et al. (2017), Total flavonoids of *Epimedium* reduce ageing- related oxidative DNA damage in testis of rats via p53-

dependent pathway. *Andrologia*, 49(10): e12756.

15. Chauhan N. S. and Dixit V. K. (2008), Spermatogenic activity of rhizomes of *Curculigo orchoides* Gaertn in male rats. *International journal of applied research in natural products*, 1(2): 26-31.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF A MODEL OF DECREASE REPRODUCTION IN MALE RABBITS BY FLUCONAZOLE AND EVALUATION EFFECT OF TXCB CAPSULES

Vu Ngoc Thang¹, Nguyen Hoang Ngan¹, Tran Van Tinh², Nguyen Minh Phuong¹

¹ Vietnam Military Medical University

² Hospital 198

This study aims to build a model of decrease reproduction and evaluate the effect of TXCB in male rabbits. Twenty-four adult bucks were divided into three groups, 8 in each, group 1: receiving sodium carboxymethyl cellulose (control); group 2: daily oral administration fluconazole dose of 50 mg/kg body weight for 30 days (model group) and group 3: daily oral administration fluconazole dose of 50 mg/kg body weight for 30 days and daily oral administration TXCB dose of 180 mg/kg body weight for 60 days. Semen was collected at baseline, after 30 days and after 60 days using an artificial vagina. Reaction time (RT) was recorded during semen collection; serum testosterone (ST) was determined after semen collection and the testicular morphometry was evaluated at the end of study. Semen was evaluated for volume (EV), pH value, sperm concentration (SC), total sperm motility (TSM), progressive sperm motility (PSM), non-progressive sperm motility (NPSM), sperm immotility (SIM), total sperm output (TSO), dead sperm (DS) and abnormal sperm (AS) of spermatozoa were determined. The results were showed significant ($p < 0.05$) increase in RT, SIM, DS and AS in model group when compared to the control group. On the other hand, EV, SC, TSM, PSM, TSO and ST level decreased significantly ($p < 0.05$) in model group than control. There were recovered in RT, EV, SC, TSO, TSM, PSM, SIM, DS and AS in group 3 and there was significant increased in ST than control group. On testicular morphometry, there was a decrease in spermatogenesis in model group.

Keywords: fluconazole; reproductive model; decrease reproduction; male rabbit.