

GÂY MÔ HÌNH SUY BUỒNG TRỨNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP TIÊM TRIPTERYGIUMGLYCOSIDE (TG) DƯỚI DA

Đoàn Minh Thụy¹, Đậu Xuân Cảnh¹, Lữ Đoàn Hoạt Mười¹, Đặng Thị Lan Phương¹,
Quách Thị Yến¹, Vũ Thanh Tuyền¹, Nguyễn Thị Hoa¹,
Đinh Việt Hùng², Nguyễn Hoàng Ngân²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Gây mô hình suy buồng trứng trên chuột nhắt cái bằng tripterygium glycosid (TG) tiêm dưới da. **Phương pháp:** Chuột nhắt trắng giống cái 6 tuần tuổi được tiêm dưới da TG 50mg/kg/ngày (0,1 ml/10g) trong 35 ngày liên tục để gây suy buồng trứng. Lô chứng tiêm nước cất. Đánh giá trọng lượng cơ thể, chu kỳ động dục của chuột, nồng độ FSH, Estrogen huyết thanh, chỉ số buồng trứng, tử cung, mô bệnh học nhuộm HE tử cung, buồng trứng và nhuộm hóa mô miễn dịch của buồng trứng đánh giá biểu hiện của protein Notch1. **Kết quả:** So với lô chứng, chuột ở lô tiêm TG có tỷ lệ chu kỳ động dục bất thường tăng, tần số chu kỳ động dục giảm ($p < 0,01$); nồng độ FSH huyết thanh tăng, nồng độ E2 huyết thanh giảm ($p < 0,01$); chỉ số tử cung và chỉ số buồng trứng giảm ($p < 0,01$); hình ảnh vi thể nhuộm HE buồng trứng có giảm các nang trứng phát triển và các hoàng thể, tử cung có nội mạc mỏng hơn và giảm các tuyến; hình ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch buồng trứng có giảm rõ rệt biểu hiện của protein Notch1 (là protein có vai trò quan trọng trong phát triển và cân bằng nội mô bằng cách điều hòa sự tăng sinh, biệt hóa và tự chết của các tế bào). **Kết luận:** Đã triển khai thành công mô hình gây suy buồng trứng trên chuột nhắt trắng cái bằng cách tiêm dưới da TG (Tripterygiumglycoside) 50mg/kg/ngày (0,1 ml/10g) trong 35 ngày liên tục.

Từ khóa: suy buồng trứng, Tripterygiumglycoside, chuột nhắt cái

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy buồng trứng sớm (Premature Ovarian Insufficiency- POI) là một hội chứng lâm sàng được định nghĩa bởi sự giảm hoặc ngừng hoạt động chức năng của buồng trứng ở những phụ nữ trước tuổi 40 với biểu hiện rối loạn kinh nguyệt, mất kinh hoặc thưa kinh, tăng FSH, giảm Estrogen máu [6]. Hậu quả của POI gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến

khả năng sinh đẻ, các ảnh hưởng lâm sàng (khô rất âm đạo, bốc hỏa, tỉnh giấc vào nửa đêm hoặc gần sáng...), loãng xương, tăng nguy cơ bị đái tháo đường, bệnh tim mạch, trầm cảm, giảm trí nhớ, rối loạn nhận thức, giảm tuổi thọ, các vấn đề tâm lý kéo dài, các vấn đề sức khỏe khác và nó cũng làm tăng tỷ lệ tử vong theo tuổi tác. Hiện nay phương thức điều trị tối ưu POI còn rất hạn chế, Y học hiện đại (YHHĐ) chủ yếu sử dụng liệu pháp hormon thay thế để giảm thiểu các triệu chứng do thiếu hụt estrogen. Tuy nhiên sử dụng hormone kéo dài cũng sẽ gây ra các hệ lụy nhất định như các tác dụng phụ của liệu pháp hormon, các bệnh nhân ung thư không thể sử dụng thuốc...[5]. Đó là một trong các lý do bệnh nhân tìm đến với điều trị hỗ trợ bằng y học cổ truyền (YHCT).

¹ Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

² Học viện Quân y

* Tác giả nghiên cứu chính:

Đoàn Minh Thụy

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Nguyễn Hoàng Ngân

Email: nganvnu@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 2/9/2020

Ngày phản biện: 5/9/2020

Ngày chấp nhận đăng: 22/9/2020

Các nghiên cứu tiến hành trên động vật thực nghiệm là một bước quan trọng để nhanh chóng có bằng chứng khoa học về hiệu quả điều trị của các thuốc YHCT. Mô hình gây suy buồng trứng bằng Tripterygiumglycoside (TG) trên chuột nhắt cái đã được một số tác giả xây dựng đánh giá cũng như sử dụng trong nghiên cứu tác dụng của thuốc, và được công bố trên các tạp chí quốc tế có uy tín [7], [4]. Tại Việt Nam đây là một mô hình, cần được triển khai đánh giá trước khi áp dụng vào nghiên cứu đánh giá tác dụng của thuốc. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: *Gây mô hình suy buồng trứng trên chuột nhắt bằng tripterygium glycosid (TG)*.

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

2.1. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng giống cái, chủng Swiss, 6 tuần tuổi, khỏe mạnh, số lượng 20 con, do Ban chăn nuôi động vật thí nghiệm, Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn về thời gian sáng tối, nhiệt độ, thức ăn, nước sạch. Chuột được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu.

2.2. Các trang thiết bị, hóa chất phục vụ cho nghiên cứu.

- Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.
- Máy xét nghiệm ELISA.
- Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.
- Hoá chất: (Tripterygiumglycoside) TG được mua từ Huangshi Feiyun Pharmaceutical. 60 mg TG được hòa tan trong 1 ml dimethyl sulfoxide (DMSO), và sau đó hỗn hợp này được hòa tan trong 11ml nước cất để được nồng độ 5 mg/ml.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

* **Tiến hành nghiên cứu** theo phương pháp của Xiu-Ying Chen và cộng sự [9] có cải

tiến. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 02 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): không gây SBT, tiêm nước cất 0,1 ml/10g dưới da, hàng ngày trong 35 ngày liên tục vào lúc 8h sáng hàng ngày.

+ Lô 2 (mô hình): gây SBT, tiêm dưới da TG 50mg/kg/ngày (0,1 ml/10g) trong 35 ngày liên tục vào lúc 8h sáng hàng ngày.

* **Đánh giá các chỉ số:**

- **Trọng lượng cơ thể chuột:** được đánh giá tại các thời điểm: D0 (trước khi gây suy buồng trứng), D35 (sau 35 ngày dùng TG gây suy buồng trứng).

- **Chu kỳ động dục của chuột:** Được đánh giá trong thời gian 21 ngày cuối của giai đoạn gây suy buồng trứng. Tỷ lệ bất thường của chu kỳ động dục và tần số động dục được phân tích. Chu kỳ động dục bình thường của chuột là 4 - 5 ngày, nếu trên 5 ngày hoặc dưới 4 ngày là bất thường.

- **Nồng độ FSH, estrogen huyết thanh:** Sau 35 ngày tiêm TG, lấy máu hóc mắt xác định nồng độ FSH, E2 huyết thanh (bằng xét nghiệm ELISA, kit xét nghiệm của hãng Sigma). Các mẫu máu được ly tâm ở 3.000 vòng/phút trong 8 phút để tách huyết thanh. Huyết thanh được lưu trữ ở nhiệt độ âm 80°C cho đến khi phân tích.

- **Chỉ số buồng trứng, tử cung và đánh giá mô bệnh học:** Mổ chuột lấy buồng trứng và tử cung, cân trọng lượng, tính các chỉ số buồng trứng và chỉ số tử cung theo công thức sau:

+ Chỉ số buồng trứng (%) = $\frac{\text{trọng lượng buồng trứng}}{\text{trọng lượng cơ thể}} \times 100 (\%)$.

+ Chỉ số tử cung (%) = $\frac{\text{trọng lượng tử cung}}{\text{trọng lượng cơ thể}} \times 100 (\%)$.

Ngay sau khi cân, buồng trứng và tử cung được cố định trong dung dịch paraformaldehyde 4%, đúc paraffin, cắt miếng 4µm, nhuộm hematoxylin và eosin, đọc tiêu bản đánh giá sự biến đổi mô bệnh học của buồng trứng và tử cung.

- **Hóa mô miễn dịch buồng trứng:** Ngay sau mổ chuột, buồng trứng được rửa 3 lần

bởi PBS, cố định bằng dung dịch paraformaldehyde 4% trong 30 phút, nhúng qua các dung dịch cồn, xylene và đúc paraffin. Cắt và dán mảnh cắt (mảnh cắt dày 6 μ m), dán lên phiến kính đã tráng 3-aminopropyltriethoxy-silane).

Nhuộm hóa mô miễn dịch: theo quy trình

- Sấy khô phiến kính đã dán lát cắt ở nhiệt độ 37°C trong 12 giờ (qua đêm)

- Ủ với kháng thể thứ nhất (primary antibody) Anti-NOTCH-1 (kháng thể đa dòng của chuột, pha loãng 1:1000): 45 phút ở 37°C.

- Ủ với kháng thể thứ hai horseradish-peroxidase conjugated goat anti-rabbit immunoglobulin G (pha loãng 1:1000): 45 phút ở 37°C.

- ABC chromogenic reagent được thêm vào với mục đích để hiện màu.

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, áp dụng các

phương pháp phân tích mô tả: tính tỷ lệ phần trăm, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn. So sánh giá trị trung bình bằng T-student test sử dụng phần mềm Microsoft Excel. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá trọng lượng cơ thể chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 1. Sau tiêm TG, tất cả các chuột đều xù lông, mệt mỏi. Tại thời điểm sau 35 ngày tiêm TG, cân nặng của chuột ở lô mô hình giảm so với lô chứng, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2. Kết quả đánh giá chu kỳ động dục của chuột

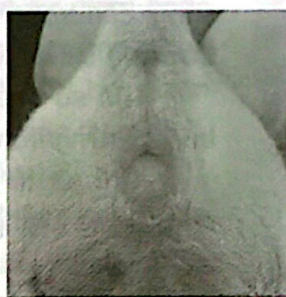
Chu kỳ động dục của chuột được đánh giá sơ bộ bằng quan sát trực quan và đánh giá xác định bằng phiến đồ âm đạo.

Bảng 3.1. Trọng lượng cơ thể chuột nghiên cứu (n = 10)

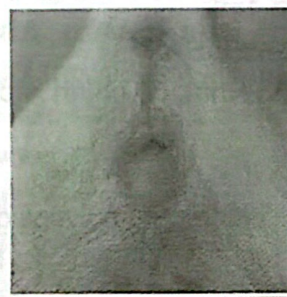
Lô chuột nghiên cứu		Trọng lượng chuột (g)		P _{b-a}
		D0 (a)	D35 (b)	
Lô 1 (chứng)	(1)	20,15 $\pm$ 0,56	26,21 $\pm$ 0,93	< 0,05
Lô 2 (mô hình)	(2)	20,28 $\pm$ 0,64	25,15 $\pm$ 0,86	
P ₂₋₁		> 0,05		



Giai đoạn không động dục (diestrus)



Giai đoạn trước động dục (proestrus)



Giai đoạn động dục (estrus)



Giai đoạn sau động dục (metestrus)

Ảnh 3.1. Các giai đoạn trong chu kỳ động dục của chuột (quan sát trực quan)

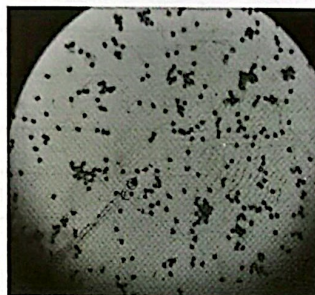
Quan sát trực quan đánh giá các giai đoạn động dục dựa vào đặc điểm sau :

- Giai đoạn không động dục: lỗ âm đạo nhỏ và đóng, âm đạo không sưng.
- Giai đoạn trước động dục: lỗ âm đạo mở rộng, mô sưng, hồng, ẩm.
- Giai đoạn động dục: lỗ âm đạo mở rộng,

âm đạo ít hồng hơn, ít ẩm hơn và ít sưng hơn.

- Giai đoạn sau động dục: lỗ âm đạo không mở rộng, âm đạo không sưng, có thể nhìn thấy mảnh tế bào trắng.

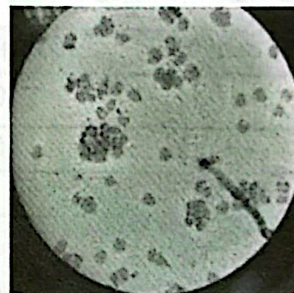
* Đánh giá giai đoạn động dục bằng phiên đồ âm đạo



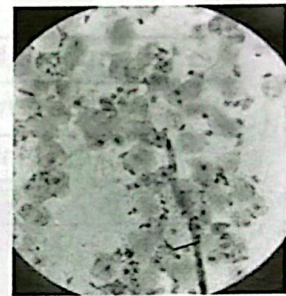
Giai đoạn không động dục (diestrus)



Giai đoạn trước động dục (proestrus)



Giai đoạn động dục (estrus)



Giai đoạn sau động dục (metestrus)

Ảnh 3.2. Các giai đoạn trong chu kỳ động dục của chuột
(đánh giá phiên đồ âm đạo)

Xác định giai đoạn động dục của chuột bằng sự có mặt hay không có mặt các tế bào bạch cầu, tế bào biểu mô âm đạo vảy sừng hóa và tế bào biểu mô âm đạo có nhân.

- Giai đoạn không động dục: chủ yếu là sự có mặt của tế bào bạch cầu và một ít tế bào biểu mô âm đạo vảy sừng hóa.

- Giai đoạn trước động dục: chủ yếu các tế bào biểu mô âm đạo có nhân và một vài tế bào biểu mô âm đạo vảy sừng hóa.

- Giai đoạn động dục: chủ yếu là các tế bào biểu mô âm đạo vảy sừng hóa.

- Giai đoạn sau động dục: chủ yếu là các tế bào biểu mô âm đạo vảy sừng hóa và một vài tế bào bạch cầu.

Kết quả đánh giá chu kỳ động dục của

chuột ở 21 ngày cuối tiêm TG được trình bày ở bảng 3.2. Ở lô mô hình tỷ lệ chu kỳ động dục bất thường của chuột tăng cao và tần số chu kỳ động dục của chuột giảm rõ so với ở lô chứng ($p < 0,01$).

3.3. Kết quả đánh giá nồng độ FSH, E2 huyết thanh của chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.3. So với lô chứng, chuột ở lô mô hình có nồng độ FSH tăng cao, nồng độ E2 giảm rõ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

3.4. Kết quả đánh giá chỉ số buồng trứng và tử cung

Kết quả được trình bày ở bảng 3.4. So với lô chứng, chuột ở lô mô hình có chỉ số buồng trứng và chỉ số tử cung giảm rõ, với $p < 0,01$.

Bảng 3.2. Chu kỳ động dục của chuột ở 21 ngày cuối tiêm TG (n = 10)

Lô chuột nghiên cứu		Tỷ lệ chu kỳ động dục bất thường của chuột (%)	Tần số chu kỳ động dục của chuột (lần)
Lô 1 (lô chứng)	(1)	$6,85 \pm 9,85$	$4,68 \pm 1,62$
Lô 2 (mô hình)	(2)	$95,42 \pm 10,77$	$2,04 \pm 0,63$
P ₂₋₁		< 0,01	< 0,01

Bảng 3.3. Nồng độ FSH, E2 huyết thanh chuột (n = 10)

Lô chuột nghiên cứu		Nồng độ FSH (IU/L)	Nồng độ E2 (ng/dL)
Lô 1 (lô chứng)	(1)	$10,32 \pm 0,56$	$526,42 \pm 58,46$
Lô 2 (mô hình)	(2)	$15,02 \pm 2,84$	$328,61 \pm 51,36$
P ₂₋₁		< 0,01	< 0,01

Bảng 3.4. Chỉ số buồng trứng, tử cung chuột (n = 10)

Lô chuột nghiên cứu		Chỉ số buồng trứng (%)	Chỉ số tử cung (%)
Lô 1 (chứng sinh lý)	(1)	$0,056 \pm 0,009$	$0,405 \pm 0,037$
Lô 2 (mô hình)	(2)	$0,027 \pm 0,005$	$0,248 \pm 0,052$
P ₂₋₁		< 0,01	< 0,01

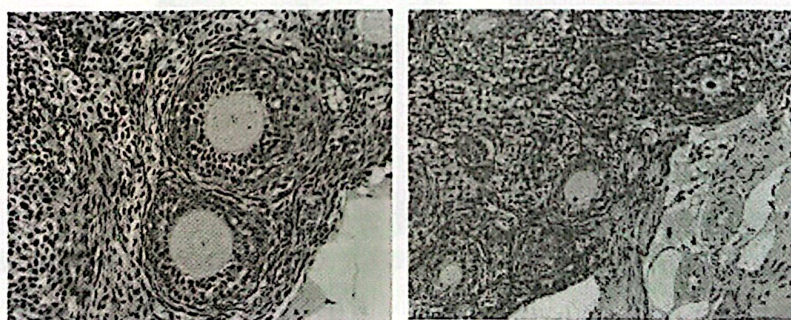
3.5. Kết quả đánh giá mô bệnh học nhuộm HE của buồng trứng và tử cung

Sau 35 ngày tiêm TG, buồng trứng chuột suy giảm rõ với biểu hiện giảm các nang trứng phát triển và giảm các hoàng thể so với ở lô chứng. Tử cung chuột cũng biến đổi rõ rệt với biểu hiện nội mạc tử cung mỏng hơn

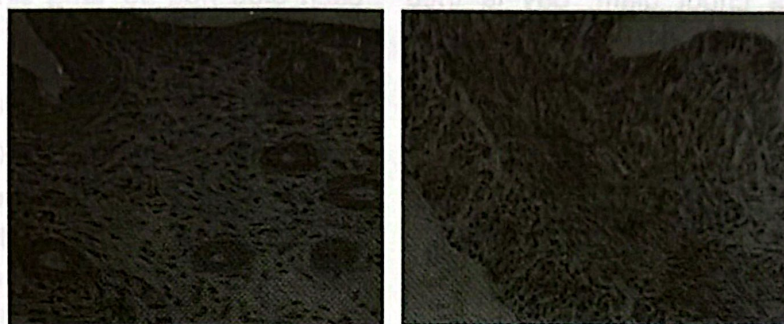
và giảm các tuyến.

3.6. Kết quả đánh giá mô bệnh học nhuộm hóa mô miễn dịch của buồng trứng

Kết quả cho thấy ở lô mô hình có sự biến đổi rõ rệt với việc giảm rõ rệt biểu hiện của protein Notch1 so với ở lô chứng.

**Ảnh 3.3.** Hình ảnh vi thể buồng trứng chuột (HE, X200).

Lô mô hình có sự biến đổi rõ rệt với việc giảm các nang trứng phát triển và giảm các hoàng thể so với ở lô chứng.



Ảnh 3.4. Hình ảnh vi thể tử cung chuột (HE, X800).

Lô mô hình có biểu hiện nội mạc tử cung mỏng hơn và giảm các tuyến khi so sánh với ở lô chứng.



Ảnh 5. Hình ảnh vi thể buồng trứng chuột nhuộm hóa mô miễn dịch (X200)

4. BÀN LUẬN

Đã có nhiều mô hình gây suy giảm buồng trứng được các tác giả công bố trên các tạp chí quốc tế. Mô hình gây suy giảm buồng trứng do tự miễn như mô hình cắt bỏ tuyến ức ở chuột sơ sinh [10], hoặc gây viêm buồng trứng tự miễn với kháng nguyên zona pellucida 3 [8], tuy nhiên mô hình này liên quan nhiều đến cơ chế của miễn dịch. Galactose có thể gây vô kinh, vô sinh và suy buồng trứng sớm ở phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ [3], nên một số tác giả đã gây suy buồng trứng trên chuột bằng galactose, tuy nhiên triển khai phức tạp do phải cho chuột mẹ dùng galactose từ khi mang thai đến lúc cai sữa, kết quả không ổn định [1]. Chuột biến đổi gen để gây suy buồng trứng cũng đã được nhiều tác giả công bố [4], tuy nhiên chưa phù hợp với điều kiện ở Việt Nam. Các nghiên cứu của các tác giả hiện nay dùng nhiều mô

hình gây suy buồng trứng bằng hóa chất, do triển khai mô hình thuận tiện, phù hợp với thực tế về tình trạng suy buồng trứng hiện nay do môi trường ô nhiễm hoặc do các thuốc điều trị. Các hóa chất thường được sử dụng để gây suy giảm buồng trứng như paclitaxel, cisplatin, cyclophosphamide và glycoside trippetgium. Mô hình gây suy buồng trứng bằng TG được nhiều tác giả đánh giá với các biểu hiện rõ rệt của buồng trứng bị suy như rối loạn chu kỳ động dục, giảm chỉ số tử cung, buồng trứng, tăng FSH, giảm oestrogen huyết thanh, giảm số lượng nang noãn và hoàng thể do tăng số lượng các nang noãn chết theo chương trình [9], [2].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với kết quả của các tác giả đã công bố. So với lô chứng không tiêm TG, chuột ở lô tiêm TG có tỷ lệ chu kỳ động dục bất thường của chuột tăng cao và tần số chu

kỳ động dục của chuột giảm, đây là triệu chứng lâm sàng cơ bản của suy buồng trứng. Việc đánh giá kết hợp quan sát trực quan và phiên đồ âm đạo cho kết quả chính xác hơn, giúp khẳng định hơn ở những trường hợp khó phân rõ giữa 2 giai đoạn. Kết quả xét nghiệm cho thấy nồng độ FSH tăng cao, nồng độ E2 giảm, phù hợp với biểu hiện rối loạn nội tiết của suy buồng trứng. Chỉ số buồng trứng và chỉ số tử cung giảm phản ánh tình trạng teo nhỏ của buồng trứng và tử cung. Kết quả mô bệnh học nhuộm HE phản ánh rõ hơn với buồng trứng giảm các nang trứng phát triển và giảm các hoàng thể, nội mạc tử cung mỏng hơn và giảm các tuyến.

Kết quả đánh giá mô bệnh học nhuộm hóa mô miễn dịch của buồng trứng chuột cho thấy giảm rõ rệt biểu hiện của protein Notch1 so với ở lô chứng. Protein Notch1 là protein thuộc con đường tín hiệu Notch1 có vai trò quan trọng trong phát triển và cân bằng nội mô bằng cách điều hòa sự tăng sinh, biệt hóa và tự chết (apoptosis) của các tế bào [9]. Việc giảm biểu hiện của protein Notch1 có thể xem là một cơ chế liên quan tới suy giảm buồng trứng trên chuột tiêm TG.

5. KẾT LUẬN

Đã thành công trong việc triển khai gây mô hình suy buồng trứng trên chuột nhắt trắng cái bằng cách tiêm dưới da TG (Tripterygiumglycoside) 50mg/kg/ngày (0,1 ml/10g) trong 35 ngày liên tục. So với lô chứng không tiêm TG, các chuột ở lô mô hình (tiêm TG) có biểu hiện xù lông, mệt mỏi, rối loạn chu kỳ động dục, tăng FSH, giảm E2 huyết thanh, teo nhỏ buồng trứng và tử cung, giảm các nang trứng phát triển và các hoàng thể ở buồng trứng, nội mạc tử cung mỏng hơn và giảm các tuyến, giảm rõ rệt biểu hiện của protein Notch1 (là protein thuộc con đường tín hiệu Notch1 có vai trò quan trọng trong phát triển và cân bằng nội mô bằng

cách điều hòa sự tăng sinh, biệt hóa và tự chết của các tế bào.

Lời cảm ơn

Chúng tôi cảm ơn Ban Giám đốc của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và Học viện Quân y đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bandyopadhyay S, Chakrabarti J, Banerjee S, Pal AK, Bhattacharyya D, Goswami SK, Chakravarty BN, Kabir SN (2003), Prenatal exposure to high galactose adversely affects initial gonadal pool of germ cells in rats, Human Reproduction, 18(2):276-282.
2. Fu Y, Zhao Z, Wu Y, et al (2012), Therapeutic mechanisms of Tongmai Dasheng Tablet on tripterygium glycosides induced rat model for premature ovarian failure. Journal of Ethnopharmacology;139(1):26-33.
3. Guerrero NV, Singh RH, Manatunga A, et al (2000), Risk factors for premature ovarian failure in females with galactosemia. The Journal of Pediatrics;137(6):833-841.
4. Jagarlamudi K, Reddy P, Adhikari D, Liu K (2010), Genetically modified mouse models for premature ovarian failure (POF). Mol Cell Endocrinol;315(1-2):1-10.
5. Kate M, Nick P (2015), Current concepts in premature ovarian insufficiency, Women's Health 11(2), tr.54-65.
6. Lisa W, Melanie, et al (2016), Management of women with premature ovarian insufficiency, Human Reproduction 31(5), tr.926-937.
7. Ma M, Chen XY, Li B, Li XT (2017),

Melatonin protects premature ovarian insufficiency induced by tripterygium glycosides: role of SIRT1. *Am J Transl Res*; 9(4):1580-1602.

8. Rhim SH, Millar SE, Robey F, et al (1992), Autoimmune disease of the ovary induced by a ZP3 peptide from the mouse zona pellucida. *J Clin Invest*; 89(1):28-35.

9. Xiu-Ying C (2014). A mouse model of

premature ovarian insufficiency induced by tripterygium glycoside via subcutaneous injection. *Int J Clin Exp Pathol*; 7(1):144-151.

10. Zhi-Bin T, Nelson Lawrence M (1999), A Mouse Gene Encoding an Oocyte Antigen Associated with Autoimmune Premature Ovarian Failure, *Endocrinology*, Volume 140, Issue 8, Pages 3720–3726.

SUMMARY

DEPLOYING THE MODEL OF OVARIAN FAILURE BY TRIPTERYGIUM GLYCOSIDE (TG) SUBCUTANEOUS INJECTION

Doan Minh Thuy¹, Dau Xuan Canh¹, Lu Doan Hoat Muoi¹, Dang Thi Lan Phuong¹,

Quach Thi Yen¹, Vu Thanh Tuyen¹, Nguyen Thi Hoa¹,

Dinh Viet Hung², Nguyen Hoang Ngan²

¹Vietnam University Of Traditional Medicine

²Vietnam Military Medical University

Objective: Ovarian failure model was induced in female mice with subcutaneous tripterygium glycoside (TG). **Methods:** 6-week-old female Swiss mice were injected subcutaneously TG 50mg/kg/day (0.1 ml/10g) for 35 consecutive days to cause ovarian failure. The control group was injected with distilled water. Evaluation of mice body weight, oestrus cycle, FSH and estrogen serum concentration, ovarian and uterus index, HE stained histopathology of uterine and ovarian, immunohistochemical staining of ovaries for Notch1 protein expression. **Results:** Compared with the control group, mice in TG injection group had increased rate of abnormal estrous cycle, decreased frequency of oestrus cycle ($p < 0.01$); increased serum FSH concentration, decreased serum E2 concentration ($p < 0.01$); decreased uterine and ovarian index ($p < 0.01$); HE stained histopathology of ovarian with decreased follicle growth and luteum, uterine with thinner endometrium and decreased glands; immunohistochemical staining of ovaries has a marked decrease in expression of the protein Notch1 (which plays an important role in endothelial development and balance by regulating cell proliferation, differentiation and death). **Conclusion:** Successfully deployed a model of ovarian failure in female Swiss mice by injecting TG (Tripterygiumglycoside) 50mg/kg/day (0.1 ml/10g) for 35 consecutive days.

Keywords: ovarian failure, Tripterygiumglycoside, female mice.