

การใช้ไคเมธิลซัลฟอกไซด์ร่วมกับเอธิลีนไกลคอลเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิลในเนื้อเยื่อรังไข่ แมวหลังการแช่แข็งด้วยวิธีวิทรีฟิเคชัน

เกวลี ฉัตรตรงค์*, ปวีณา ชูระนุติ¹, วุฒิชัย กลมเกลียว², ชีรวัฒน์ ธาราตานิต¹,
มงคล เตชะกำฟู¹, ชัยณรงค์ โลหิต¹

¹ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ ²ภาควิชากายวิภาคศาสตร์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ

การแช่แข็งเนื้อเยื่อรังไข่มีประสิทธิภาพในการรักษาเซลล์สืบพันธุ์ได้มากกว่าการแช่แข็งโอโอไซต์ที่เจริญแล้ว เพราะในเนื้อเยื่อรังไข่มีฟริแอนทรลฟอลลิเคิลจำนวนมาก นอกจากนี้ยังเป็นการรักษาการทำงานของเซลล์สร้างสารเทียรอยด์และเซลล์สืบพันธุ์อีกด้วย วิทรีฟิเคชันเป็นวิธีการแช่แข็งที่ทำได้ง่ายและใช้เวลาน้อย จึงเหมาะที่จะใช้ในงานภาคสนาม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบสารป้องกันการแช่แข็งแบบวิทรีฟิเคชัน โดยใช้ไคเมธิลซัลฟอกไซด์ หรือเอธิลีนไกลคอล ชนิดเดียว หรือสองชนิดร่วมกัน ประเมินจากเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของโอโอไซต์และจำนวนฟอลลิเคิลที่มีเซลล์แกรนูโลซาสมบูรณ์มากกว่าหรือเท่ากับ 90 เปอร์เซนต์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน การทดลองที่ 1 ประเมินการมีชีวิตหลังการแช่แข็งและละลายทันที การทดลองที่ 2 ประเมินจากลักษณะจุลกายวิภาค การทดลองที่ 3 ประเมินการมีชีวิตหลังจากนำไปเลี้ยงนอกร่างกายต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า การใช้ไคเมธิลซัลฟอกไซด์ร่วมกับเอธิลีนไกลคอลเป็นสารป้องกันการแช่แข็ง ทำให้เปอร์เซ็นต์ฟอลลิเคิลมีชีวิตหลังการละลายทันที และเปอร์เซ็นต์โอโอไซต์มีชีวิตหลังการเลี้ยงนอกร่างกาย 1 วัน มากกว่าการใช้สารป้องกันการแช่แข็งเพียงชนิดเดียว (61 และ 39.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ) ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของลักษณะโอโอไซต์ที่ประเมินทางจุลกายวิภาค ($p > 0.05$) กล่าวโดยสรุป วิธีวิทรีฟิเคชันใช้แช่แข็งเนื้อเยื่อรังไข่แมวได้ และไคเมธิลซัลฟอกไซด์ร่วมกับเอธิลีนไกลคอล ทำให้อัตราการรอดชีวิตของโอโอไซต์และฟอลลิเคิลในเนื้อเยื่อรังไข่ดีขึ้น วิธีนี้จึงเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษาเซลล์สืบพันธุ์สัตว์ป่าตระกูลแมวที่อาจตายกระทันหันในภาคสนามได้

คำสำคัญ แมว เนื้อเยื่อรังไข่ โอโอไซต์ที่ยังไม่เจริญ สารป้องกันการแช่แข็ง

*ผู้รับผิดชอบบทความ เกวลี ฉัตรตรงค์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ ปทุมวัน กทม.10330 อีเมลล์
Kaywalee.C@chula.ac.th

Combination of dimethylsulphoxide and ethylene glycol improves survival of preantral follicles after ovarian tissue vitrification in domestic cats

Chatdarong, K.^{1*}, Thuwanut, P.¹, klomkleaw, W.², Tharasanit, T.¹,
Techakamphu, M.¹, Lohachit, C.¹

¹Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, ²Department of Veterinary Anatomy,
Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Abstract

Ovarian tissue cryopreservation has potential advantages over mature oocyte preservation in that large numbers of preantral follicles are preserved. Furthermore, it preserves both steroidogenic and gametogenic functions. To simplify the freezing process, vitrification is currently a suitable simply and time saving alternative, particularly to be used in the field conditions. This study aimed to compare efficacy of dimethylsulphoxide (DMSO), or ethylene glycol (EG) alone, or the combined solutions to vitrify cat ovaries as a model for wild felid conservation. Experiment 1: assessing viability immediately after vitrified-warmed. Experiment 2: observing the follicular morphology. Experiment 3: evaluating viability after 1-day *in vitro* culture. Follicles with 90% intact granulosa cells were classified as intact follicles. The percentages of intact follicles immediately after vitrified-warmed and viable oocytes after 1-day *in vitro* culture were greater in the samples treated with DMSO and EG combination than DMSO and EG alone (61% and 39.0%, respectively) ($p < 0.05$). However, differences of morphologically normal follicles were not observed between groups in the histological sections ($p > 0.05$). In conclusions, vitrification is feasibly used for preserve preantral follicles in the cat ovarian tissue. The combination of DMSO and EG is highly efficient for the vitrification. This technique provides promising results to be applied to preserve female gamete in endangered felids die unexpectedly.

Keywords: Feline; Ovarian tissue; Immature oocyte; Cryoprotectant

***Corresponding author:** Kaywalee Chatdarong, Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330. E.mail: Kaywalee.C@chula.ac.th, Tel. 0-2218-9644