ญาณภร อันทะเกตุ: ผลของการเสริมเรสเวอราทอลในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนและน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนหลังละลายต่ออัตราการพัฒนาและคุณภาพของตัวอ่อนโคแช่แข็งระยะบลาสโตซิส (YANAPON ANTHAKAT: EFFECTS OF RESVERATROL SUPPLEMENTATION IN *IN VITRO* EMBRYO CULTURE MEDIUM AND POST WARMING SOLUTION ON DEVELOPMENTAL RATES AND QUALITY OF VITRIFIED BOVINE BLASTOCYSTS) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ.ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย, 53 หน้า

คำสำคัญ: ตัวอ่อนวัว/เรสเวอราทรอล/ไวติฟิเคชั่น

ปัจจุบันเทคโนโลยีการแช่แข็งตัวอ่อนและการย้ายฝากตัวอ่อนโคมีการศึกษาและพัฒนากันอย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์โคที่มีคุณสมบัติพันธุกรรมดีเยี่ยม เรสเวอราทอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยลดความเครียดในตัวอ่อน โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน (IVC) โดยไม่เสริม (IVC-) และเสริม (IVC+) 0.5 μM เรสเวอราทอลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนโคในหลอดแก้วและการอยู่รอดของตัวอ่อนโคหลังการแช่แข็งด้วยวิธีไวติฟิเคชั่น (vitrification) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอ่อนสด พบว่าการเพิ่ม 0.5 μM เรสเวอราทอล ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน (IVC) มีอัตราการเพิ่มขึ้นของตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสเล็กน้อย (35.20%) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (32.40%) จากนั้นเมื่อศึกษาผลของตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสที่ถูกแช่แข็งและละลายในน้ำยาเลี้ยงที่เสริม (VT+) และไม่เสริม (VT-) เรสเวอราทอลเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อัตราการอยู่รอดของตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสในกลุ่ม IVC-VT- (87.04%), IVC+VT- (88.89%), IVC+VT+ (94.34%) และ IVC-VT+ (94.74%) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสจากกลุ่ม IVC+VT+ มีอัตราการพัฒนาสูงที่สุด 81.25% ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกกลุ่มแช่แข็ง การประเมินผลเรสเวอราทรอลที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ inner cell mass (ICM), trophectoderm (TE) และจำนวนเซลล์ทั้งหมดของตัวอ่อนระยะ บลาสโตซิส (total cell number) พบว่าการเสริมด้วยเรสเวอราทอลทั้งก่อนและหลัง vitrification ไม่มีผลต่อจำนวนเซลล์ ICM, TE และจำนวนเซลล์ทั้งหมดในกลุ่มตัวอ่อนสดและแช่แข็ง

การวิจัยนี้ยังประเมินระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ apoptosis (*BAX* และ *BCL2*), การเผาผลาญไขมัน (*PNPLA2*) และ transcription factor (*SIRT1* และ *FOXO3A*) พบว่าในกลุ่มตัวอ่อนแช่แข็งที่เสริมด้วยเรสเวอราทอลมีการแสดงออกของยีน *BAX*, *PNPLA2* และ *FOXO3A* สูงขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มากกว่าในกลุ่มตัวอ่อนสด ในขณะเดียวกันกลุ่มตัวอ่อนแช่แข็งพบการแสดงออกของยีน *BCL2* ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอ่อนสด การแสดงของยีน *SIRT1* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยเรสเวอราทอลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อย่างไรก็ตาม การศึกษาในอนาคตจำเป็นต้องหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ resveratrol เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการแช่แข็งตัวอ่อนต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา...ญาณภร อันทะเกตุ.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

YANAPON ANTHAKAT: EFFECTS OF RESVERATROL SUPPLEMENTATION IN *IN VITRO* EMBRYO CULTURE MEDIUM AND POST WARMING SOLUTION ON DEVELOPMENTAL RATES AND QUALITY OF VITRIFIED BOVINE BLASTOCYSTS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph.D., 53 PP.

Keyword: Bovine embryo/Resveratrol/Vitrification

Currently, the technology for embryo cryopreservation and embryo transfer of cattle has been continuously studied and developed to propagate cattle with desirable genetic traits. Resveratrol is a crucial antioxidant that plays a significant role in alleviating stress in embryos. This research aimed to examine in vitro culture (IVC) medium without (IVC-) and with (IVC+) 0.5 μM resveratrol on the development of in vitro fertilized embryos and survival of vitrified-warmed embryos, compared with fresh embryos. Results showed that the addition of 0.5 μM resveratrol in IVC medium showed slightly increased blastocyst formation rate (35.20%), which was not significantly different ($p < 0.05$) when compared to the control group (32.40%). Then, the vitrified blastocysts were placed in warming solution with (VT+) and without (VT-) resveratrol and incubated for 2 h before cultured for another 24 h. Survival rates of blastocysts of IVC-VT- (87.04%), IVC+VT- (88.89%), IVC+VT+ (94.34%) and IVC-VT+ (94.74%) were not significantly different ($p < 0.05$). The blastocysts derived from IVC+VT+ showed the highest developmental rate at 81.25%, which was not significantly different ($p < 0.05$) among the vitrified groups. The effect of resveratrol on inner cell mass (ICM), trophectoderm (TE) and the total cell numbers of blastocysts was also evaluated. Supplementation of resveratrol at pre- and post-vitrification did not affect ICM, TE, and the total cell numbers in all fresh and vitrified groups.

This research also examined the expression level of genes related to apoptosis (*BAX* and *BCL2*), lipid metabolism (*PNPLA2*), and transcription factor (*SIRT1* and *FOXO3A*). The vitrified-warmed blastocysts in all resveratrol treated groups significantly higher ($p < 0.05$) expressions of *BAX, PNPLA2*, and *FOXO3A* genes than the fresh blastocysts. Meanwhile, the expression of the *BCL2* gene in all vitrified groups was significantly lower than fresh blastocysts. The expression of the *SIRT1* gene was not significantly different among all control and resveratrol treated groups.

However, further study is needed to determine the optimal concentration of resveratrol for enhancing the efficiency of embryo cryopreservation.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biotechnology
Academic Year 2023

Student's Signature.....Yanapon Anthakot.....
Advisor's Signature.....