

Thesis Title	Effect of White Gwow (<i>Pueraria mirifica</i> Airy Shaw et Suvatabandhu) Extract on <i>In Vitro</i> Maturation and Fertilization of Mouse Oocytes	
Author	Miss Preeyalak Rodkaew	
M.Sc.	Physiology	
Examining Committee	Dr. Pompimon Tangchaisin	Chairman
	Associate Professor Dr. Amphawan Apisariyakul	Member
	Associate Professor Salika Aritajat	Member

ABSTRACT

White Gwow (*Pueraria mirifica* Airy Shaw et Suvatabandhu) is regarded as a medicinal herb. It has been reported to have some effects on female reproductive tract in many species. However, no scientific information on the effect of White Gwow on the *in vitro* maturation and fertilizability of mammalian oocyte were available. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the effect of White Gwow extract on *in vitro* maturation and fertilizability of mouse oocytes.

This study was designed into 2 experiments. In the first experiment, approximately 24-day-old female ICR mice were killed and the germinal vesicle (GV) stage oocytes were collected from their ovaries. The immature oocytes were randomly incubated for 24 and 48 hours at 37°C in Waymouth medium containing various concentrations of Lyophilized White Gwow in gas phase of 5% CO₂ and 100% humidified air. The results showed that concentrations of White Gwow ranging from 1.0 to 10.0 mg/ml significantly (P<0.05) increased the proportion of GV-stage oocytes

developed to metaphase II stage after incubation for 24 hours (7.00 ± 0.85 - 8.35 ± 1.49 vs 5.70 ± 0.65 for control) and 48 hours (7.70 ± 1.03 - 8.85 ± 1.26 vs 6.10 ± 0.55 for control). However, the concentrations of 15.0 and 20.0 mg/ml significantly ($P < 0.05$) inhibited oocyte maturation compared with the control group (at 24 hrs: 4.55 ± 1.14 and 3.30 ± 1.08 , respectively vs 5.70 ± 0.65 ; at 48 hrs: 4.80 ± 1.00 and 3.55 ± 1.10 , respectively vs 6.10 ± 0.55).

The second experiment was conducted, to test the fertilizing ability of the in vitro matured oocytes from each group of experiment I. The mature oocytes were inseminated with sperm collected from the cauda epididymide of mature male mice, and incubated in 5% CO₂ in air at 37°C for 24 hours. The results showed that control group and concentrations of White Gwow ranging from 0.5-10.0 mg/ml had significantly ($P < 0.05$) different fertilization rate competence. The concentrations of White Gwow ranging from 0.5 to 10.0 mg/ml tended to increase the fertilization rate after 24 hours of incubation when compared with the control group (59.05%-65.62% vs 54.78%). However, the concentrations of White Gwow extract at 15.0 and 20.0 mg/ml tended to inhibit fertilization competence (37.63% and 25.58%, respectively vs 54.78%). This study indicated that White Gwow extract stimulated oocyte maturation in vitro and did increased in fertilizability of the in vitro matured oocytes in a dose response manner. The exact mechanism that White Gwow stimulated oocyte maturation and led to better fertilization rate were unknown. The suspect mechanism may in a manner similar to the mechanism that estrogen affects the oocyte maturation and did increased in fertilizability. Further studies are needed to use the purified White Gwow extract that has estrogenic effect and to investigate the effect of White Gwow on quality of embryo developed in vitro and implantation.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดจากกวาวขาวต่อการสุกและการปฏิสนธิภายนอก ร่างกายของไข่หนูถีบจักร	
ชื่อผู้เขียน	นางสาวปรียาลักษณ์ รอดแก้ว	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาสรีรวิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ดร. พรภิมล ตั้งชัยสิน	ประธานกรรมการ
	รศ.ดร. อัมพวัน อภิสริยะกุล	กรรมการ
	รศ. สาลิกา อริธชาติ	กรรมการ

บทคัดย่อ

กวาวขาว (*Pueraria mirifica* Airy Shaw et Suvatabandhu) จัดว่าเป็นพืชสมุนไพร ซึ่งมีรายงานว่าผลบ้างต่อระบบการเจริญพันธุ์ของสัตว์เพศเมียในหลายสปีชีส์ อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับผลของกวาวขาวต่อการสุกและความสามารถในการปฏิสนธิภายนอกในร่างกายของไข่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดังนั้นการศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อประเมินผลของสารสกัดจากกวาวขาวต่อการสุกและความสามารถในการปฏิสนธิภายนอกในร่างกายของไข่หนูถีบจักร

การศึกษานี้ออกแบบเป็นสองการทดลอง การทดลองแรกนำหนูเพศเมียอายุประมาณ 24 วัน มาฆ่าเพื่อเก็บไข่ในระยะ GV จากรังไข่ จากนั้นแบ่งไข่ซึ่งยังไม่สุกแบบสุ่มออกเป็นกลุ่มใส่ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Waymouth ที่มีสารสกัดจากกวาวขาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน นำไปเพาะเลี้ยงในตู้อบที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ และความชื้นในอากาศ 100% เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของกวาวขาว ตั้งแต่ 1.0 ถึง 10.0 มก./มล. มีผลเพิ่มสัดส่วนการสุกของไข่ (P<0.05) จากระยะ GV ไปเป็นระยะ Metaphase II อย่างมีนัยสำคัญ ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง (7.00±0.85 - 8.35±1.49 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 5.70±0.65) และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ (7.70±1.03 - 8.85±1.26 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 6.10±0.55) อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 มก./มล. มีผลยับยั้งการสุกของไข่อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ที่ 24 ชั่วโมง: 4.55±1.14 และ 3.30±1.08 ตาม

ลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 5.70 ± 0.65 ; ที่ 48 ชั่วโมง: 4.80 ± 1.00 และ 3.55 ± 1.10 ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 6.10 ± 0.55)

ในการทดลองที่สอง ได้ทำการทดสอบความสามารถในการปฏิสนธิของไข่ที่สุกเต็มที่แล้วจากการทดลองแรก โดยนำไข่จากแต่ละกลุ่มมาปฏิสนธิกับอสุจิซึ่งเก็บมาจากส่วน cauda epididymide ของหนูเพศผู้โตเต็มวัย และเพาะเลี้ยงไว้ในตู้บ่มที่มี 5% CO₂, อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่ากลุ่มควบคุมและความเข้มข้นของกวางขาว ตั้งแต่ 0.5 ถึง 10.0 มก./มล. มีอัตราการปฏิสนธิที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยที่ความเข้มข้นของกวางขาว ตั้งแต่ 0.5 ถึง 10.0 มก./มล. มีแนวโน้มเพิ่มอัตราการปฏิสนธิ ภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 59.05%-65.62% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 54.78%) อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 มก./มล. มีแนวโน้มยับยั้งความสามารถในการปฏิสนธิ (37.63% และ 25.58% ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ 54.78%)

การศึกษานี้บ่งชี้ว่าสารสกัดจากกวางขาว มีผลกระตุ้นการสุกของไข่อย่างมีนัยสำคัญและเพิ่มความสามารถในการปฏิสนธิภายนอกของไข่ในรูปแบบการตอบสนองต่อความเข้มข้นกลไกที่แท้จริงที่กวางขาวมีผลกระตุ้นการสุกของไข่และนำไปสู่อัตราการปฏิสนธิที่ดีขึ้นยังไม่สามารถอธิบายได้จากผลการทดลองนี้ แต่กลไกที่อาจเป็นไปได้คือกลไกที่คล้ายคลึงกับเอสโตรเจนที่มีผลต่อการสุกและเพิ่มความสามารถในการปฏิสนธิของไข่ จึงเสนอแนะว่าในการศึกษาต่อไปจำเป็นต้องสกัดบริสุทธิ์สารที่มีผลคล้ายเอสโตรเจนในกวางขาว จะสามารถพิสูจน์กลไกของกวางขาวต่อการสุกของไข่ และสืบค้นผลของกวางขาวต่อคุณภาพของตัวอ่อนที่เจริญในหลอดทดลองและการฝังตัว