# บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาอัตราความสำเร็จในการแช่แข็งตัวอ่อนหนูระยะ 2 เซลล์ ด้วยวิธี ultrarapid และ vitrification เปรียบเทียบกับวิธีลดอุณหภูมิลงช้าๆ

**สถานที่เก็บข้อมูล** ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีช่วยการเจริญพันธุ์ ภาควิชาสูติศาสตร์นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**ตัวอย่างการวิจัย** ตัวอ่อนระยะ 2 เซลล์ของหนูถีบจักรสายพันธุ์ ICR ที่ได้รับการกระตุ้นให้มีการตกไข่หลายใบ จำนวน 818 ตัวอ่อน

**วิธีดำเนินการวิจัย** ตัวอ่อนหนูถูกแบ่งแบบสุ่มออกเป็น 4 กลุ่มคือ:

กลุ่ม 1 แช่แข็งในหลอดพลาสติกด้วยวิธีลดอุณหภูมิลงช้าๆ (204 ตัวอ่อน);

กลุ่ม 2 แช่แข็งบนแผ่นอลูมิเนียมด้วยวิธี ultrarapid (204 ตัวอ่อน);

กลุ่ม 3 แช่แข็งบนบ่วงของลวดทองแดงด้วยวิธี vitrification (202 ตัวอ่อน);

กลุ่ม 4 เป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทำการแช่แข็ง จำนวน (208 ตัวอ่อน);

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอ่อนในกลุ่มควบคุม และตัวอ่อนที่ผ่านขบวนการแช่แข็งและการละลายจะนำมาเลี้ยงต่อในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน G1.2 นาน 24 ชั่วโมงและใน G2.2 ต่ออีก 48 ชั่วโมง

**ผลการศึกษา** ตัวอ่อนที่รอดชีวิตในทันทีหลังการแช่แข็ง และการละลายตัวอ่อนพบว่ามีจำนวนสูงสุดในกลุ่ม ultrarapid (190/204 ตัวอ่อน = 93.1%) ซึ่งสูงกว่าในกลุ่ม slow freezing (169/204 ตัวอ่อน = 82.8%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.005$) แต่ไม่ต่างจากกลุ่ม vitrification (180/202 ตัวอ่อน = 89.1%) ใน 24 ชั่วโมงถัดมาจำนวนตัวอ่อนที่รอดจากการแช่แข็งมีอัตราการแบ่งตัวต่อไปสูงสุดในกลุ่ม ultrarapid (175/190=92.1%) ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม(195/208=93.8%) และกลุ่ม slow freezing (147/169=87.0%) แต่สูงกว่าในกลุ่ม vitrification มาก (149/180=82.8%; $p=0.0066$) จำนวนตัวอ่อนที่เจริญไปเป็น blastocyst พบว่าไม่ต่างกันในกลุ่มของ slow (99/169=58.6%) และ ultrarapid (112/190=58.9%) freezing แต่ต่างจากกลุ่ม vitrification (85/180=47.2%) อย่างมีนัยสำคัญ ทำนองเดียวกันอัตราการเกิด hatching blastocyst พบว่าไม่ต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่ม slow

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(71/169=42%) และกลุ่ม ultrarapid freezing (62/190=32.6%) แต่ต่างจากกลุ่ม vitrification (40/180=22.2%) อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)ตัวอ่อนในกลุ่มควบคุมพบว่ามีอัตราการเจริญไปเป็น blastocyst (157/208=75.5%) และ hatching blastocyst (112/208=53.8%) สูงกว่าตัวอ่อนที่ผ่านการแช่แข็งทุกวิธี (P<0.05)

**สรุป** Ultrarapid freezing เป็นวิธีการแช่แข็งที่ทำได้ง่ายและประหยัดค่าใช้จ่ายให้ผลสำเร็จไม่แตกต่างจากวิธีลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ ในแง่ของการเจริญพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ blastocyst อย่างไรก็ตามควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปก่อนที่จะนำมาใช้ในมนุษย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# ABSTRACT

**Objective**: To compare the success rates of ultrarapid freezing, vitrification and conventional slow programmable freezing in the cryopreservation of mouse 2-cell embryos.

**Setting:** Assisted conception laboratory, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

**Subjects:** Eight hundred and eighteen 2-cell embryos from ICR superovulated female mice

**Intervention** Mouse embryos were randomly allocated into 4 groups:

Group 1: slow programmable freezing in plastic straw (204 embryos)

Group 2: ultrarapid freezing on aluminum foil (204 embryos)

Group 3: vitrification on copper wire loop (202 embryos)

Group 4: Non-frozen controls (208 embryos).

Embryos in the control group and those that survived freezing and thawing were cultured in G1.2 for 24 hours and then in G2.2 for another 48 hours

**Results:** Immediate survival after freezing and thawing was highest in the ultrarapid group (190/204 embryos = 93.1%), which was significantly higher (p=0.005) than that in the slow freezing (169/204 embryos = 82.8%) (p=0.005), but not significantly different from the vitrification group (180/202=89.1%). In the next 24 hours, further cleavage rate was

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

highest in the ultrarapid group (175/190=92.1%). This was not significantly different from those in the control (195/208=93.8%) and the slow freezing group (147/169=87%) but significantly different from the vitrification group (149/180=82.8%; p=0.0066). The percentages of embryos that developed into blastocysts were not different between the slow (99/169=58%) and the ultrarapid group (112/190=58.9%) but significantly different from the vitrification group (85/180=47.2%). Similarly, percentages of embryos that developed into hatching blastocysts were not significantly different between slow (71/169=4250 and ultrarapid freezing (62/190=32.6%) but significantly higher than that in the vitrification group (40/180=22.2%). Embryos in the control group had significantly higher potential to develop into blastocyst (157/208=75.5%) and hatching blastocysts (112/208=53.8%) than frozen-thaw embryos regardless of their freezing methods ($P<0.05$).

**Conclusion:** Utrarapid freezing was simple and less expensive than slow cooling but it gave comparable results in terms of blastocyst development. Further study should be done before the method is recommended for routine use in human embryo cryopreservation.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved