

16 JAN 2003



**A STUDY ON SPERM QUALITY AND CHROMATIN
CONDENSATION IN DOMESTIC CAT (*Felis catus*)**

SARAWUT SRINGAM

๔

**With compliments
of**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (ANATOMY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2002

ISBN 974-04-2603-4

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

TH

62434

2002

114

4237909 SCAN/M : MAJOR : ANATOMY ; M.Sc. (ANATOMY)

KEY WORDS : SPERM/ CHROMATIN CONDENSATION/ CAT

SARAWUT SRINGAM : A STUDY ON SPERM QUALITY AND CHROMATIN CONDENSATION IN DOMESTIC CAT (*Felis catus*). THESIS

ADVISORS : YINDEE KITIYANANT, M.Sc., KANOK PAVASUTHIPASIT, Ph.D., CHUMPOL PHOLPRAMOOL Ph.D. 65 P. ISBN 974-04-2603-4

The objectives of this study were to determine the sperm quality in domestic cats during the passage through the epididymis, vas deferens and in ejaculation and to study the chromatin condensation by using flow cytometry. Cat epididymides were divided into 6 regions (1-6). In morphological study, the number of normal morphological spermatozoa was significantly increased ($P < 0.05$) after the epididymal transit. The greatest prevalence of abnormal spermatozoa was found in the tail part of the epididymis. Sperm motility was found at first in region 1 and significantly increased ($P < 0.05$) when the spermatozoa passed from this region to other regions. The most pronounced overall increase in motility was in region 6, vas deferens and in ejaculation. To investigate the sperm chromatin condensation, the spermatozoa were stained with acridine orange (AO) and propidium iodide (PI) and measured by using flow cytometer. The maturation of sperm chromatin condensation by using AO staining was $72.9 \pm 9.4\%$ in region 1 and significantly increased ($P < 0.05$) in region 3 ($94.4 \pm 2.6\%$). The fluorescence intensity of chromatin staining by PI in region 1 was 24.0 ± 2.8 and significantly decreased ($P < 0.05$) in region 4 (17.4 ± 1.1). There was no difference in the fluorescence intensity of region 5, 6 and vas deferens. The chromatin condensation or decondensation process was studied in cat epididymides (4 portions: initial segment, caput, corpus and cauda) by using alkaline phosphatase (AP) and dithiothreitol (DTT), respectively. The fluorescence intensity decreased in most of the epididymis to that found in the initial segment in the AP treatment group (16.4 ± 2.7). The DTT treatment significantly increased ($P < 0.05$) the fluorescence of the chromatin condensation in all parts but not in the initial segment. The results indicated that the number of normal morphological spermatozoa and motility increase during epididymal transit. The cat sperm chromatin undergoes condensation during their passage through the epididymis and the condensation process can be reversed or promoted by reducing disulfide to sulfhydryl bonds or removing the phosphate groups from protamine, respectively.

4237909 SCAN/M : สาขาวิชา : กายวิภาคศาสตร์ ; วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)

สรารุช ศรีงาม: การศึกษาคุณภาพของเซลล์อสุจิและการขดแน่นของเส้นใยโครมาตินของเซลล์อสุจิในแมว (A STUDY ON SPERM QUALITY AND CHROMATIN CONDENSATION IN DOMESTIC CAT (*Felis catus*)) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ยินดี กิตยานันท์, วท.ม., กนก ภาวสุทธิไพสิฐ, ปร.ด., ชุมพล ผลประมุก, Ph.D. 65 หน้า. ISBN 974-04-2603-4

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพของเซลล์อสุจิระหว่างการเคลื่อนผ่านท่อพักเชื้ออสุจิ ท่อนำน้ำเชื้ออสุจิและในน้ำเชื้ออสุจิของแมวและศึกษาการขดแน่นของเส้นใยโครมาตินโดยใช้ฟลูออโรโครม โดยการแบ่งท่อพักเชื้ออสุจิเป็น 6 ส่วน (ส่วนที่1-6) ในการศึกษาด้านรูปร่างของเซลล์อสุจิ พบว่าเซลล์อสุจิที่มีรูปร่างปกติพบมากขึ้นหลังจากที่เซลล์อสุจิมีการเคลื่อนผ่านท่อพักอสุจิ ความผิดปกติของเซลล์อสุจิพบได้มากในส่วนหางของเซลล์อสุจิ การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิพบได้ตั้งแต่ท่อพักน้ำเชื้ออสุจิส่วนที่ 1 และเซลล์อสุจิมีการเคลื่อนไหวยามากที่สุดในส่วนที่ 6 ท่อนำน้ำเชื้ออสุจิและในน้ำเชื้ออสุจิ การศึกษาการขดแน่นของเส้นใยโครมาตินของเซลล์อสุจิ โดยทำการย้อมเซลล์อสุจิด้วยสารเรืองแสง acridine orange และ propidium iodide แล้วทำการตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ ในการศึกษาโดยใช้ acridine orange พบว่าความสมบูรณ์ของการขดแน่นของเส้นใยโครมาตินของเซลล์อสุจิในท่อพักเชื้ออสุจิส่วนที่ 1 มีค่าเท่ากับ $72.9 \pm 9.4\%$ และมีค่าเพิ่มมากขึ้นในส่วนที่3 ($94.4 \pm 2.6\%$) ในการศึกษาโดยใช้ propidium iodide พบว่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์อสุจิในท่อพักเชื้ออสุจิในส่วนที่ 1 มีค่าเท่ากับ 24.0 ± 2.8 และความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์อสุจิมีค่าลดลงในส่วนที่ 4 (17.4 ± 1.1) แต่ไม่พบความแตกต่างในส่วนที่5, 6 และท่อนำน้ำเชื้ออสุจิ ในการศึกษาขบวนการขดแน่นและการคลายตัวของเส้นใยโครมาตินโดยใช้สาร alkaline phosphatase (AP) และ dithiothreitol (DTT) ตามลำดับโดยการแบ่งท่อพักเชื้ออสุจิเป็น 4 ส่วน: ส่วนเริ่มต้น ส่วนหัว ส่วนกลางตัวและส่วนหาง ในการศึกษาโดยใช้ AP พบว่าเซลล์อสุจิจากส่วนต่างๆของท่อพักเชื้ออสุจิมีความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ไม่แตกต่างจากที่พบในท่อพักเชื้ออสุจิส่วนแรก และในการศึกษาโดยใช้ DTT พบว่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซลล์อสุจิเพิ่มขึ้นในทุกส่วนของท่อพักเชื้ออสุจิยกเว้นในส่วนเริ่มต้น จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าเซลล์อสุจิที่มีรูปร่างปกติและมีความสามารถในการเคลื่อนไหวและการขดแน่นของเส้นใยโครมาตินของเซลล์อสุจิ สามารถพบได้มากขึ้นเมื่อเซลล์อสุจิเคลื่อนผ่านท่อพักเชื้ออสุจิ และการขดแน่นของเส้นใยโครมาตินสามารถทำการคลายเกลียวหรือเพิ่มการขดแน่นขึ้น โดยการเปลี่ยนพันธะไคซัลไฟด์เป็นพันธะซัลไฮดริลหรือการเอาหมู่ฟอสเฟตออกจากโปรตามีน ตามลำดับ