

พิมพ์ด้านฉบับทั้งหมดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

สาระสำคัญ โสภณ : ผลของการเก็บรักษาไข่ต่อลูกตัวและการฟื้นฟูและ การปฏิสนธินอกร่างกาย (EFFECTS OF PORCINE FOLLICULAR OOCYTE STORAGE CONDITIONS ON MATURATION AND FERTILIZATION IN VITRO) อ.ที่ปรึกษา :

ศ.มณีวรรณ กมลพัฒนา และ รศ.ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด. 92 หน้า ISBN 974-634-875-2

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการเจริญของไข่ต่อลูกตัวเพื่อปฏิสนธินอกร่างกายและความเป็นไปได้ในการแข็งแข็ง โดยใช้อิโอดีไซด์ที่จะได้จากฟอลลิเคิลขนาด 2-6 มม. ของรังไข่สุกรจากโรงฆ่าสัตว์ และใช้มีเดียม M199B เป็นมีเดียมพื้นฐานในการเก็บและคัดเลือก โอลิโอดีไซด์ให้สุก เลี้ยงใน IVM มีเดียม ซึ่งเป็นมีเดียม M199B ที่เสริม ฟอลลิเคิล สติมูลติง ฮอร์โมน 1 หน่วย/มล. ลูทีโนซิ่ง ฮอร์โมน 1 หน่วย/มล. เอสตราไดออล 1 มิโครกรัม/มล. และของเหลวจากฟอลลิเคิล 10% โดยปริมาตร และได้นำไข่สุกรมาได้ทำการปฏิสนธิกับน้ำเชื้อสัตว์ที่ได้จากการพ่อสุกร ใน IVF มีเดียม ซึ่งเป็นมีเดียม M199B ที่เติม คาเฟอีน 2 มิลลิโลลาร์ ทั้งการเลี้ยงไข่ให้สุกและการปฏิสนธิกระทำในอุณหภูมิ 39° ซ. ในบรรยายกาศที่มีการบอนโดรอิโซไซด์ 5% ในอากาศ จากการศึกษาการเจริญของโอลิโอดีไซด์ที่เลี้ยงนาน 12-48 ช.ม. โดยตรวจทุก ๆ 2 ช.ม. พบว่าโอลิโอดีไซด์เจริญถึงระดับเมตาเฟส II ประมาณชั่วโมงที่ 32 และเริ่มมีเปอร์เซนต์การสุกสูง (80.5%) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป และจากการทดสอบการปฏิสนธิของน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกร 7 ตัว พบร้า น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรแต่ละตัวให้ผลการปฏิสนธิและการเจริญถึง 2-4 เซลล์แตกต่างกัน เมื่อศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของโอลิโอดีไซด์ที่ได้จากการรังไข่ที่เก็บไว้ที่ 24° ซ ก่อนนำมาเลี้ยงเป็นเวลา 0 8 12 18 หรือ 24 ช.ม. หลังจากนำรังไข่มาถึงห้องปฏิบัติการ พบร้าสามารถเก็บรังไข่ไว้ได้นาน 8 ช.ม. โดยมีเปอร์เซนต์ไข่สุกที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับโอลิโอดีไซด์ที่ได้จากการเจาะรังไข่ที่ก่อนถึงห้องปฏิบัติการ ในการทดสอบความเป็นพิษของสารป้องกันการเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์ 5 ชนิด ได้แก่ กลีเซอโรล (GLY) ไดเมทิลชัลฟอโนไซด์ (DMSO) เอกิลิโนไกลคอล (EG) โปรปีลีนไอกลคอล (PROOH) บิวเทนไดออล (BUOH) พบร้า สารทุกชนิดที่ 1.5 มิลลิโลลาร์ ไม่เป็นอันตรายต่อโอลิโอดีไซด์ที่จะเจริญจนสุก การทดลองลดอุณหภูมิของโอลิโอดีไซด์ลงจาก 29° ถึง 4° ซ จะพบว่า เมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 15° ซ เปอร์เซนต์ไข่สุกจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) และถ้าอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 15° ซ จนถึง 4° ซ จะไม่มีไข่สุกเลย ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของมีเดียม VTM 3 ชนิด สำหรับการทำไวรัสพิคเซน คือ VTM 1 ประกอบด้วย EG 7.5 มิลลิโลลาร์ ใน มีเดียม 199 ที่มี โบวายน์ซิรัมอัลบูมิน (BSA) 6% VTM 2 ประกอบด้วย EG 6.25 มิลลิโลลาร์ และ GLY 0.7 มิลลิโลลาร์ ซูครอส 0.1 มิลลิโลลาร์ ใน มีเดียม 199 ที่มี 20 % พีตอลโบวายน์ซิรัม และ VTM 3 ประกอบด้วย EG 7.15 มิลลิโลลาร์ ซูครอส 0.1 มิลลิโลลาร์ และ ไซโตคลาเซิน บี (CB) 1.75 ในมิโครกรัม/มล. ใน มีเดียม 199 ที่มี 20 % พีตอลโบวายน์ซิรัม พบร้าการปรับสมดุลย์แรงดันออกسمोติกในมีเดียม VTM ทุกชนิด ไม่มีผลทำให้โอลิโอดีไซด์แตกต่างไปจากการเลี้ยงโอลิโอดีไซด์ให้สุกตามปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อนำโอลิโอดีไซด์มาทำแข็งแข็งด้วยวิธีพิคเซน พบร้าโอลิโอดีไซด์ที่ผ่านการแข็งแข็งจากทุกมีเดียมไม่สามารถเจริญต่อหลังการละลาย เพราะเกิดการทำลายนิวเคลียสและโอลิโอดีไซด์ และการทดลองแข็งแข็งไข่สุกพบว่าหลังการละลายไข่สุกไม่สามารถทำการปฏิสนธิได้และเกิดการทำลายนิวเคลียสและโอลิโอดีไซด์ในกระบวนการนี้ เช่น สามารถยืนยันได้จากการถ่ายทอดกล้องจุลทรรศน์อิเลคทรอนแบบทราบสมมิชชัน

การศึกษาครั้งนี้ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากการรังไข่สุกซึ่งมีอยู่มากให้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยหาความรู้เกี่ยวกับการเจริญและพัฒนาของเซลล์ไข่ต่อลูกจนฝึกฝนทักษะประสบการณ์ในงานปฏิสนธินอกร่างกาย