

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน

จากผลการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนแพะ คือ เทคนิคที่ใช้ตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน และระยะเวลาเจริญของตัวอ่อน โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.1 เทคนิคที่ใช้ตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน

การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนแพะโดยใช้น้ำยาตัดตัวอ่อน และการทำรอยบากที่พื้นของจานตัดตัวอ่อนในการศึกษาครั้งนี้ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน สามารถตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนได้ในเวลารวดเร็วโดยเฉลี่ยไม่ถึง 3 นาที หรืออยู่ในช่วงระหว่าง 0.2 ถึง 10 นาที เนื่องจากไม่ต้องใช้ปิเปตดูดตัวอ่อน และไม่ต้องใส่ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งกลับเข้าไปใน zona pellucida สอดคล้องกับรายงานของ Lewis (1994) และ Reichelt และ Niemann (1994) การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนโดยใช้ปิเปตดูดตัวอ่อน และใส่ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งกลับเข้าไปใน zona pellucida ทำให้เสียเวลามาก (Ozil และคณะ, 1982; Gatica และคณะ, 1984; Williams และคณะ, 1984b; Udy, 1987) ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนครั้งนี้ไม่ได้ใช้น้ำมันปกคลุมน้ำยาที่ใช้ตัดแบ่งตัวอ่อน ทำให้ตัดแบ่งตัวอ่อนได้สะดวก สามารถมองเห็นตัวอ่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ชัดเจน และไม่เกิดการปนเปื้อนจากน้ำมันขณะตัดแบ่งตัวอ่อน การปกคลุมน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนด้วยน้ำมันขณะตัดแบ่งตัวอ่อนทำให้มองเห็นตัวอ่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ไม่ชัดเจน และน้ำมันอาจปนเปื้อนกับตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง หรือเครื่องมือตัดแบ่งตัวอ่อน ทำให้ไม่สะดวกในการปฏิบัติงาน

ตัวอ่อนระยะที่สามารถนำมาตัดแบ่งครั้งในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนได้ดี คือตัวอ่อนระยะ morula, early blastocyst, blastocyst และ hatched blastocyst เนื่องจากตัวอ่อนจะลงไปติดที่พื้นของจานตัดตัวอ่อนโดยใช้เวลาไม่มาก เป็นผลจากการสูญเสียน้ำของตัวอ่อนเพราะในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนมีน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนประกอบ ทำให้มีความหนาแน่นสูงกว่าตัวอ่อน (Herr และ Reed, 1991)

ตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst ต้องตัดแบ่งในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน เนื่องจากตัวอ่อนมีของเหลวอยู่ภายในช่องว่าง blastocoele มาก จึงใช้เวลานานในการสูญเสียน้ำออกจากตัวอ่อน ทำให้ใช้เวลานานมากในการลงไปติดที่พื้นของจานตัดตัวอ่อน ซึ่งตัวอ่อนที่อยู่ในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนเป็นเวลานาน อาจมีผลต่อความสามารถในการมีชีวิตรอด เพราะน้ำยาตัดแบ่ง

ตัวอ่อนมีความหนาแน่นสูง และไม่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ จึงไม่ควรให้ตัวอ่อนอยู่ในน้ำยา
 คัดแบ่งตัวอ่อนนานมากกว่า 5 นาที (Herr และคณะ, 1993) เมื่อใส่ตัวอ่อนลงไปในน้ำยาเก็บรักษา
 ตัวอ่อน ตัวอ่อนจะลงไปอยู่ที่พื้นของจานคัดแบ่งตัวอ่อนแต่ไม่ติดแน่น ทำให้คัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนได้
 ยากเนื่องจากตัวอ่อนกลิ้งไปมาขณะกดใบมีดลงไปเพื่อคัดแบ่ง จึงต้องใช้ใบมีดคัดตัวอ่อนทำ
 รอยบากที่พื้นของจานคัดแบ่งตัวอ่อนตามวิธีการของ Bredbecka (1991) เพื่อควบคุมไม่ให้ตัวอ่อน
 กลิ้งไปมาขณะคัดแบ่ง แต่ก็ไม่สามารถคัดแบ่งตัวอ่อนได้ง่ายเหมือนคัดแบ่งในน้ำยาคัดแบ่งตัวอ่อน
 เนื่องจากตัวอ่อนยังมีการกลิ้งไปมา จึงต้องกดใบมีดลงบนตัวอ่อนให้ช้าที่สุด นอกจากนี้การจัด
 ตัวอ่อนให้อยู่ในตำแหน่งเหมาะสมที่จะคัดแบ่งครึ่งทำได้ยาก คืออยู่ในแนวที่ใบมีดจะคัดแบ่งครึ่ง
 ตัวอ่อนให้มีส่วนของ inner cell mass และส่วน trophoblast มีสัดส่วนเท่ากับครึ่งหนึ่งของตัวอ่อน
 ปกติ บางครั้งทำให้ตัวอ่อนคัดแบ่งครึ่งที่ได้มีสัดส่วนของ inner cell mass และ trophoblast ไม่เท่า
 กับครึ่งหนึ่งของตัวอ่อนปกติ ดังที่ Saito (1994) อธิบายว่าตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst
 คัดแบ่งครึ่งให้มีขนาดเท่ากันได้ยาก เพราะไม่สามารถจำแนกส่วนของ inner cell mass ได้ชัดเจน
 นอกจากนั้น Skrzyszowska และ Smorag (1989) ได้อธิบายว่าการที่ไม่สามารถคัดแบ่งครึ่งให้ส่วน
 inner cell mass และ trophoblast มีสัดส่วนเท่ากับครึ่งหนึ่งของตัวอ่อนปกติมีอิทธิพลต่อการพัฒนา
 ของตัวอ่อนคัดแบ่งครึ่ง

1.2 ระยะการเจริญของตัวอ่อน

จากการศึกษาพบว่า ตัวอ่อนระยะ morula และ early blastocyst ใช้เวลาคัดแบ่งครึ่ง
 น้อยกว่าตัวอ่อนระยะ blastocyst, expanded blastocyst และ hatched blastocyst อย่างมีนัยสำคัญ
 ทางสถิติ ($P < 0.05$) เนื่องจากเมื่อนำตัวอ่อนระยะ morula และ early blastocyst ใส่ลงในน้ำยา
 คัดแบ่งตัวอ่อน ตัวอ่อนจะลงไปติดที่พื้นของจานคัดแบ่งตัวอ่อนอย่างรวดเร็ว เพราะตัวอ่อนระยะ
 morula ไม่มีช่องว่าง blastocoele เหมือนกับตัวอ่อนในระยะ blastocyst ถึง hatched blastocyst
 ดังนั้นตัวอ่อนระยะ morula จึงอาจจะมีปริมาณน้ำในตัวอ่อนน้อยกว่าตัวอ่อนระยะ blastocyst ถึง
 ระยะ hatched blastocyst จึงใช้เวลาน้อยในการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์อันเนื่องจากผลของน้ำตาล
 ซูโครสในน้ำยาคัดแบ่งตัวอ่อน (Herr และ Reed, 1991) นอกจากนี้ตัวอ่อนระยะ morula สามารถ
 คัดแบ่งได้ง่ายโดยไม่ต้องคำนึงถึงสัดส่วนของ inner cell mass และ trophoblast ที่ต้องคัดแบ่งให้
 เท่ากัน เพราะตัวอ่อนระยะ morula ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เป็นส่วนของ inner cell mass
 และ trophoblast ดังนั้น ไม่ว่าจะคัดแบ่งครึ่งในแนวไหนก็สามารถคัดแบ่งครึ่งได้ตัวอ่อนคัดแบ่ง
 ครึ่งที่มีขนาดเท่ากัน ส่วนตัวอ่อนระยะ early blastocyst เมื่อใส่ลงไปในน้ำยาคัดแบ่งตัวอ่อน
 ตัวอ่อนจะมีการยุบตัวเป็นผลจากการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ของน้ำตาลซูโครส ทำให้ช่องว่าง
 blastocoele ที่มีขนาดเล็กเกิดการยุบตัว และไม่สามารถมองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด inverted

ทำให้ไม่สามารถจำแนกส่วนของ inner cell mass และ trophoblast ได้ เมื่อตัดแบ่งจึงอาจทำให้ได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มีความขนาดและสัดส่วนของ inner cell mass ไม่เท่ากัน แม้จะใช้เวลาน้อยในการตัดแบ่งก็ตาม ขณะที่ตัวอ่อนระยะ blastocyst ถึง hatched blastocyst ใช้เวลานานในการลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน เพราะมีช่องว่าง blastocoele ที่มีของเหลวอยู่ภายในปริมาณมาก ทำให้ตัวอ่อนมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน และการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์เพื่อปรับความหนาแน่นให้เท่ากับน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนต้องใช้เวลา (Herr และคณะ, 1993) นอกจากนี้ต้องตัดแบ่งให้ inner cell mass และ trophoblast มีสัดส่วนเท่ากัน จึงใช้เวลาในการตัดแบ่งครั้งนานกว่าตัวอ่อนระยะ morula และ early blastocyst

ตัวอ่อนระยะ morula

ตัวอ่อนระยะ morula สามารถตัดแบ่งครั้งให้มีความเท่ากันได้ง่าย จึงสามารถตัดแบ่งครั้งให้มีความเท่ากันได้ดีกว่าตัวอ่อนระยะ early blastocyst, blastocyst, expanded blastocyst และ hatched blastocyst คือมีตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มีส่วนจำนวนเซลล์อยู่ในระดับ 5 ซึ่งเป็นตัวอ่อนตัดแบ่งที่มีสัดส่วนเท่ากับครึ่งหนึ่งของตัวอ่อนปกติ เท่ากับ 91.30, 80.95, 76.00, 77.38 และ 87.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากไม่ว่าจะตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนในแนวใดก็สามารถตัดแบ่งครั้งให้มีความและจำนวนเซลล์เท่ากันได้ง่าย สอดคล้องกับรายงานของ Nagashima และคณะ (1984), Arave และคณะ (1987), Skrzyszowska และ Smorag (1989) และ Bredbecka และคณะ (1994)

การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ morula พบการหลุดของเซลล์ตัวอ่อนมาก เนื่องจากเซลล์ของตัวอ่อนแะระยะ morula มีการสัมผัสและการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์น้อยกว่าตัวอ่อนที่ระยะการเจริญขั้นที่สูงกว่า เมื่อตัดแบ่งครั้งจึงมีแนวโน้มที่เซลล์จะแยกออกจากกันได้ง่าย เกิดการหลุดและการเสียหายของเซลล์มาก ทำให้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้มีจำนวนเซลล์ลดลงมากกว่าครึ่งหนึ่งของตัวอ่อนปกติ สอดคล้องกับรายงานของ Nagashima และคณะ (1984), Tsunoda และคณะ (1985), Skrzyszowska และ Smorag (1989) ดังที่ Udy (1987) อธิบายว่าการหลุดของเซลล์ตัวอ่อนระยะ morula ของแพะขณะตัดแบ่งครั้ง อาจเนื่องจากตัวอ่อนแะระยะนี้มีการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์น้อยกว่าตัวอ่อนโคและแกะ

ตัวอ่อนระยะ early blastocyst

ตัวอ่อนระยะ early blastocyst สามารถตัดแบ่งให้ได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มีส่วนของเซลล์เท่ากันน้อยกว่าตัวอ่อนระยะ morula ทั้งๆ ที่ใช้เวลาในการตัดแบ่งใกล้เคียงกัน เนื่องจากตัวอ่อนระยะ early blastocyst เริ่มมีการเกิดช่องว่าง blastocoele และมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและหน้าที่ของเซลล์ตัวอ่อนเป็นส่วน trophoblast และ inner cell mass จึงต้องตัดแบ่งครั้งให้ได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มีส่วนของเซลล์ trophoblast และเซลล์ inner cell mass เท่ากัน เมื่อใส่ตัวอ่อน

ระยะ early blastocyst ลงในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน เซลล์ตัวอ่อนเริ่มเกิดการยุบตัว เนื่องจากการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ซึ่งเป็นผลจากน้ำตาลซูโครสในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ทำให้ปริมาณของเหลวภายในเซลล์ของตัวอ่อนและในช่องว่าง blastocoele ลดลง (Herr และ Reed, 1991) จึงมองไม่เห็นช่องว่าง blastocoele และไม่สามารถจำแนกส่วน inner cell mass ได้ชัดเจน การตัดแบ่งให้มีขนาดเท่ากันจึงทำได้ยาก

การตัดแบ่งตัวอ่อนระยะ early blastocyst พบการหลุดของเซลล์ตัวอ่อนน้อยกว่าการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ morula เนื่องจากตัวอ่อนระยะ early blastocyst เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและหน้าที่ของเซลล์ มีการสัมผัสและการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์มากขึ้น (Shostak, 1991) จึงมีความทนทานต่อการตัดแบ่งมากกว่าตัวอ่อนระยะ morula

ตัวอ่อนระยะ blastocyst

ตัวอ่อนระยะ blastocyst เมื่อใส่ลงไปในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ใช้เวลามากกว่าตัวอ่อนระยะ morula และ early blastocyst ในการลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน เมื่อตัวอ่อนตกลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน ตัวอ่อนจะเริ่มเกิดการยุบตัว เนื่องจากการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ซึ่งเป็นผลจากน้ำตาลซูโครส ทำให้ปริมาณของเหลวภายในเซลล์ของตัวอ่อนและในช่องว่าง blastocoele ลดลง และมีการเพิ่มขนาดของช่องว่าง perivitelline จึงต้องรีบตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนด้วยความรวดเร็ว ถ้าหากไม่สามารถตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนได้ในเวลาอันรวดเร็ว การยุบตัวของตัวอ่อนเกิดมากขึ้น ทำให้ไม่สามารถจำแนกส่วนของ inner cell mass ได้ และทำให้ตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนให้มีขนาดและสัดส่วนของเซลล์เท่ากันได้ยาก การที่ตัวอ่อนตกลงไปที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อนช้ากว่าตัวอ่อนระยะ morula อาจเนื่องจากตัวอ่อนระยะ blastocyst มีช่องว่าง blastocoele ซึ่งมีของเหลวที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าความหนาแน่นของน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ตัวอ่อนจึงลอยอยู่บนน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน และจมลงอย่างช้าๆ เมื่อมีการปรับความหนาแน่นให้เท่ากัน โดยของเหลวภายในช่องว่าง blastocoele ถูกดึงออกมาสู่น้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนโดยกระบวนการออสโมซิส (Herr และ Reed, 1991) ทำให้ตัวอ่อนเกิดการยุบตัว มองไม่เห็นช่องว่าง blastocoele และไม่สามารถจำแนกส่วน inner cell mass ได้ จึงตัดแบ่งครั้งได้ยาก และตัดแบ่งได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าตัวอ่อนระยะ morula คือ 76.00 และ 91.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ blastocyst พบการหลุดของเซลล์หรือความเสียหายของเซลล์ตัวอ่อนน้อยมาก เนื่องจากตัวอ่อนระยะ blastocyst ขึ้นไปมีความทนทานต่อการตัดแบ่ง และเซลล์ของตัวอ่อนมีการยึดเกาะกันมาก สอดคล้องกับรายงานของ Nowshari และ Holtz (1993) และ Udy (1987) แต่ Skrzyszowska และ Smorag (1989) รายงานว่าตัวอ่อนหลังจากระยะ morula สามารถตัดแบ่งครั้งได้ประสบความสำเร็จมาก แต่มีจำนวนเซลล์สูญเสียมาก โดยเฉพาะในส่วน

ของ inner cell mass เนื่องจากการยึดเกาะกันของเซลล์ inner cell mass ไม่แข็งแรงเท่ากับเซลล์ในส่วนอื่นของ trophoblast

ตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst

ตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst เมื่อใส่ลงไปในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ตัวอ่อนไม่ลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน แต่ลอยอยู่บนหยดของน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนทำให้ไม่สามารถตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนได้ การที่ตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst ไม่ลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน เนื่องจากตัวอ่อนมีช่องว่าง blastocoele ขนาดใหญ่ และมีของเหลวบรรจุอยู่ภายในช่องว่างมาก ตัวอ่อนจึงมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนซึ่งมีน้ำตาลซูโครส ทำให้ใช้เวลานานมากในการปรับให้ความหนาแน่นของตัวอ่อนเท่ากับค่าความหนาแน่นของน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน และของเหลวภายในตัวอ่อนออกมาสู่ภายนอกตัวอ่อนในอัตราที่ช้ามาก (Herr และคณะ, 1993) ตัวอ่อนจึงใช้เวลานานมากในการลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน ดังรายงานของ Herr และคณะ (1990b) พบว่าเมื่อนำน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนที่มีน้ำตาลซูโครสปริมาณสูง ตัวอ่อนจะใช้เวลานานประมาณ 5 นาที จึงลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน และไม่สามารถจำแนกส่วน inner cell mass เนื่องจากการหดตัวของเซลล์ตัวอ่อน แต่เมื่อนำน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนที่มีน้ำตาลซูโครสปริมาณต่ำ ตัวอ่อนจะลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อนอย่างรวดเร็ว โดยที่สามารถจำแนกส่วน inner cell mass ได้ และมีการขูดตัวของ blastocyst เป็นบางส่วน

การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst โดยใช้น้ำยาเก็บรักษาตัวอ่อนเป็นน้ำยาตัดแบ่ง เป็นวิธีที่นำมาใช้ตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะได้ เพราะสามารถตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะให้ได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่มีขนาดเท่ากัน ใกล้เคียงกับการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ blastocyst ในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน คือ 77.38 และ 76.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใช้เวลาในการตัดแบ่งครึ่งไม่แตกต่างจากตัวอ่อนระยะ blastocyst และ hatched blastocyst แต่การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนต้องปฏิบัติอย่างระมัดระวัง เนื่องจากตัวอ่อนยังคงมีการกลิ้งไปมาขณะตัดแบ่ง

ตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst

ตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst เป็นตัวอ่อนที่ฟักตัวออกจาก zona pellucida มีรูปร่างเหมือนตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst แต่ไม่มี zona pellucida เมื่อใส่ตัวอ่อนลงไปบนน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ตัวอ่อนจะลงไปติดที่พื้นของจานตัดแบ่งตัวอ่อน โดยใช้เวลาใกล้เคียงกับตัวอ่อนระยะ blastocyst เนื่องจากตัวอ่อนมีช่องว่าง blastocoele ขนาดใหญ่ แต่ไม่มี zona pellucida ทำให้การสูญเสียน้ำออกจากเซลล์เป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้ตัวอ่อนเกิดการขูดตัว แต่ยังสามารถมองเห็น inner cell mass ได้ชัดเจน ทำให้ตัดแบ่งครึ่งได้เท่ากันใกล้เคียงกับตัวอ่อนระยะ morula คือ 87.75 และ 91.30 เปอร์เซ็นต์ ตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst ตัดแบ่งครึ่งโดยมีการ

หลุดของเซลล์น้อยมาก ตัวอ่อนในระยะนี้จึงเหมาะสมในการนำมาตัดแบ่งครั้ง เนื่องจากตัวอ่อนมีจำนวนเซลล์มากและเซลล์มีขนาดเล็กจึงทนทานการตัดแบ่งครั้งได้ดี สอดคล้องกับรายงานของ Tsunoda และคณะ (1985)

2. ผลของการเสริมสาร solcoseryl[®] ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง

การเสริมสาร solcoseryl[®] ในระดับ 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่ใช้เลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง ไม่ได้เพิ่มอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะเดียวกันหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ($P>0.05$) แสดงว่าการเสริมสาร solcoseryl[®] ไม่มีผลเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งในสภาพการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน อาจเนื่องจาก

1. ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนมีการเสริมด้วยซีรัมจากลูกโคซึ่งสกัดจากเลือดลูกโค สาร solcoseryl[®] ก็เป็นสารที่สกัดจากเลือดลูกโคเช่นเดียวกัน จึงอาจมีส่วนประกอบของสารต่างๆ ใกล้เคียงกันและส่งผลต่อการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งเหมือนกัน การเสริมสาร solcoseryl[®] ในระดับที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ลงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนจึงอาจเป็นเสมือนการเสริมซีรัมจากลูกโคลงไปอีกส่วนหนึ่ง จึงไม่ก่อให้เกิดความแตกต่างในการพัฒนาของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง เช่นเดียวกับรายงานของ Thuemmel และคณะ (1989) พบว่าการเสริมด้วยซีรัมโคเพศผู้ที่ตอนแล้วเพียงอย่างเดียว เพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนโคได้ดีกว่าการเสริมด้วยสารที่ออกฤทธิ์เช่นเดียวกับสาร solcoseryl[®] หรือการเสริมด้วยสารทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่สามารถนำมาใช้อธิบายผลของ solcoseryl[®] ได้ชัดเจน เนื่องจากเป็นสารต่างชนิดกัน และ Russler-Long และคณะ (1991) พบว่าการเสริมด้วย BSA ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ช่วยเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนถึงระยะ blastocyst และเพิ่มการฟักตัวของตัวอ่อนได้ดีกว่าการเสริมด้วยสาร solcoseryl[®] ขณะที่ Reed และคณะ (1987) เสริมสาร solcoseryl[®] ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่ไม่มีซีรัม พบว่าเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อน แต่ Hahn (1984) และ Viker และคณะ (1984) เสริมสาร solcoseryl[®] ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่มีซีรัมลูกโค สามารถเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนได้ แสดงว่าสาร solcoseryl[®] อาจมีส่วนประกอบที่เพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อน และซีรัมก็มีส่วนประกอบที่เพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนเช่นเดียวกัน การที่ไม่มียารายงานการศึกษาผลของการเสริมสาร solcoseryl[®] เปรียบเทียบกับการเสริมซีรัมจากลูกโค จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าสาร solcoseryl[®] มีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายกับซีรัมจากลูกโคหรือไม่ แต่ solcoseryl[®] มีสารหลายชนิดที่แตกต่างจากซีรัมจากลูกโค จึงมีการนำมาใช้ในการเร่งการหายของแผล (Broghamer, 1965, Wickingen, 1965 อ้างโดย Solcoseryl, nd) ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการเสริมสาร solcoseryl[®] เปรียบเทียบกับการเสริมซีรัมลูกโคในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนในการเลี้ยง

ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง เพื่อจำแนกผลของสาร solcoseryl[®] ต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในการเลี้ยงตัวอ่อนให้ชัดเจน และศึกษาผลร่วมกันของซีรัมลูกโคและสาร solcoseryl[®] ว่าออกฤทธิ์เสริมกันหรือไม่

2. ระดับของสาร solcoseryl[®] ที่ใช้ในการเลี้ยงตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่งในการศึกษารังนี้ อาจไม่เหมาะสมหรือน้อยเกินไป แต่รายงานการวิจัยส่วนใหญ่เสริมสาร solcoseryl[®] ในระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ Russler-Long และคณะ (1991) เสริมสาร solcoseryl[®] ในระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่ได้ช่วยเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนแกะ แต่เป็นข้อสังเกตว่าในการศึกษารังนี้เมื่อเสริมสาร solcoseryl[®] ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน หรือระดับของสาร solcoseryl[®] ที่ใช้เสริมสูงขึ้น ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ early blastocyst, blastocyst, expanded blastocyst และ hatched blastocyst มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงขึ้น โดยเฉพาะตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst มีอัตราการมีชีวิตรอดเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน สอดคล้องกับรายงานของ Viker และคณะ (1984) แสดงว่าระดับของการเสริมสาร solcoseryl[®] ในการศึกษารังนี้ไม่เหมาะสม จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระดับที่เหมาะสมของสาร solcoseryl[®] ในการเลี้ยงตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง เพื่อให้การเลี้ยงตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่งประสบความสำเร็จสูงสุด

3. การศึกษาที่พบว่าสาร solcoseryl[®] ช่วยเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อน เป็นการศึกษาในหนู mouse (Hahn, 1984; Reed และคณะ, 1987) โค (Viker และคณะ, 1984) ซึ่งเป็นการศึกษาในตัวอ่อนที่ไม่ได้ตัดแบ่งครึ่ง หรือตัวอ่อนที่ได้รับการฉีดไข่ การศึกษาในตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งมีเพียงรายงานของ Hahn (1984) เท่านั้น ซึ่งยังไม่มีรายงานการใช้สาร solcoseryl[®] ในการเลี้ยงตัวอ่อนแพะหรือตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่งมาก่อน ตัวอ่อนแพะอาจตอบสนองต่อการเสริมสาร solcoseryl[®] แตกต่างจากสัตว์ชนิดอื่น

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง

3.1 ระยะการเจริญของตัวอ่อน

3.1.1 ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนที่นำมาตัดแบ่งต่อคุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งหลังเลี้ยง

การเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนพบว่า ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst และ hatched blastocyst มีความสามารถในการพัฒนาดีที่สุด คือสามารถพัฒนาถึงคุณภาพระดับ 2 ได้ 44.68 และ 43.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst และ early blastocyst สามารถพัฒนาถึงคุณภาพระดับ 2 เพียง 2.00 และ 2.40 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula ไม่

สามารถพัฒนาดังคุณภาพระดับ 2 ได้ โดยมีความสามารถในการพัฒนาดังคุณภาพระดับ 1 เพียง 5.43 เปอร์เซ็นต์ ตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst และ hatched blastocyst จึงมีศักยภาพในการพัฒนาดีกว่าตัวอ่อนระยะ blastocyst, early blastocyst และ morula เมื่อนำมาตัดแบ่งครึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Reichelt และ Niemann (1994) และ Tao และคณะ (1995)

3.1.2 ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนเพาะตัดแบ่งครึ่งหลังเลี้ยง

เมื่อพิจารณาอัตราการมีชีวิตรอด โดยตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่มีคุณภาพหลังเลี้ยงอยู่ในระดับ 2 และระดับ 1 แสดงว่ามีความสามารถในการมีชีวิตรอด พบว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst และ hatched blastocyst มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงกว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst, early blastocyst และ morula (69.05, 65.31, 32.00, 26.19 และ 4.48 ตามลำดับ, $P < 0.05$) และตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst และ early blastocyst มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงกว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula (32.00, 26.19 และ 4.48 ตามลำดับ, $P < 0.05$) เนื่องจากตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาสูงกว่าตัวอ่อนระยะ morula มีความหนาแน่นต่อการตัดแบ่งครึ่งได้ดี มีผลกระทบจากการสูญเสีย zona pellucida และมีการสูญเสียเซลล์จากการตัดแบ่งครึ่งน้อย เพราะมีการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์มาก ตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาสูงกว่าตัวอ่อนระยะ morula ไม่ต้องการ zona pellucida หลังจากตัดแบ่งครึ่ง นอกจากนี้ยังมีจำนวนเซลล์มากและพร้อมที่จะฝังตัวในมดลูกของตัวรับ และสามารถตัดแบ่งครึ่งให้ส่วนของ inner cell mass และ trophoblast มีสัดส่วนที่เท่ากัน ทำให้ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้มีศักยภาพในการพัฒนาสูงกว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula สอดคล้องกับรายงานของ Ozil และคณะ (1982), Willadsen และ Godke (1984), Williams และคณะ (1984a; 1984b), Rorie และคณะ (1985), Tsunoda และคณะ (1985), Chense และคณะ (1987a), Udy (1987), Maurer และ Hruska (1988), McEvoy และ Sreenan (1990), Saito และคณะ (1991), Bredbecka และคณะ (1992), De Armas และคณะ (1992), Shelton (1992), Losskutoff และคณะ (1993) และ Nowshari และ Holtz (1993) ซึ่ง Tsunoda และคณะ (1985) พบว่าตัวอ่อนเพาะระยะ hatched blastocyst มีจำนวนเซลล์มาก และเซลล์มีขนาดเล็กกว่าตัวอ่อนระยะอื่น จึงทนต่อการตัดแบ่งครึ่งได้ดีกว่าตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาอยู่ในขั้นต่ำกว่า

การที่ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula ในการศึกษาครั้งนี้มีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำมาก เนื่องจาก

1. การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ morula มีการสูญเสียเซลล์มาก และเซลล์ตัวอ่อนมีการเกาะยึดกันไม่แน่น จึงอาจทำให้การสื่อสารและการขนย้ายสารอาหารระหว่างเซลล์

เพื่อให้มีการพัฒนาต่อไปร่วมกันไม่ดีพอ ทำให้มีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำมากเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน นอกจากนี้ตัวอ่อนระยะ morula ยังไม่ได้มีการพัฒนาเพื่อเปลี่ยนแปลงรูปร่างและหน้าที่ของเซลล์ครั้งแรก เพื่อแบ่งออกเป็นเซลล์ส่วนของ inner cell mass และ trophoblast เมื่อถูกตัดแบ่งครึ่งจึงอาจสูญเสียความสามารถในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เป็นส่วนดังกล่าว ทำให้ไม่สามารถพัฒนาต่อไปเป็นตัวอ่อนระยะ blastocyst หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนได้ดีเท่าที่ควร สอดคล้องกับรายงานของ Nagashima และคณะ (1984), Niemann และคณะ (1986) และ McEvoy และ Sreenan (1990) ซึ่ง Robl และ First (1985) พบว่าจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่เหลือน้อยกว่า 8 ถึง 16 เซลล์ ไม่สามารถพัฒนาถึงระยะ blastocyst ได้ แต่สามารถพัฒนาเป็น trophoblast ที่ไม่มีส่วน inner cell mass เท่านั้น

2. ในการศึกษาครั้งนี้ตัดแบ่งตัวอ่อนแพะในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนซึ่งมีซูโครส และไม่มีโปรตีน ทำให้เซลล์ตัวอ่อนแพะระยะ morula เกิดการหดตัว ซึ่งเซลล์ตัวอ่อนแพะระยะ morula อาจมีความอ่อนไหวต่อการหดตัว และการไม่มีโปรตีนในน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ส่งผลให้มีอัตราการมีชีวิตรอด หรือความสามารถในการพัฒนาต่ำ ตรงข้ามกับรายงานของ Nowshari และ Holtz (1993) ที่เลี้ยงตัวอ่อนแพะที่ตัดแบ่งใน DPBS ที่มีซีรัมแพะ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีน้ำตาลซูโครส พบว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula มีอัตราการมีชีวิตรอด 45 เปอร์เซ็นต์ แม้จะต่ำกว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst แต่สูงกว่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มาก และยังไม่มียางานการตัดแบ่งตัวอ่อนแพะโดยใช้น้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนที่มีซูโครส และไม่มีโปรตีน เปรียบเทียบกับการตัดแบ่งตัวอ่อนในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนปกติ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการใช้น้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนแพะระยะต่างๆ โดยเฉพาะระยะ morula เปรียบเทียบกับการตัดแบ่งตัวอ่อนในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนปกติที่ไม่มีซูโครส เพื่อศึกษาถึงวิธีการตัดแบ่งตัวอ่อนแพะที่มีประสิทธิภาพ

3. สาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้ตัวอ่อนระยะ morula ตัดแบ่งครึ่งในการศึกษาครั้งนี้ มีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำมาก อาจเนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน เมื่อเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula นาน 3 ชั่วโมง พบว่า blastomere ที่อยู่รอบตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งเกิดเป็นถุงน้ำ และเมื่อเลี้ยงถึง 24 ชั่วโมง พบการเกิดถุงน้ำมากขึ้นหรือเซลล์ตัวอ่อนเกิดการฝ่อ เมื่อตรวจสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดหลังจากเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง โดยพิจารณาจากลักษณะรูปร่าง พบว่าตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula ส่วนใหญ่ไม่มีชีวิตรอด อาจเนื่องจากการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งเป็นระยะเวลานาน ทำให้ความสามารถในการมีชีวิตรอดลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Picard และคณะ (1984), Baker และ Shea (1985), Chesne และคณะ (1987b), Seike และคณะ (1989), Lucas-Hahn และ

Niemann (1991), De Armas (1992), Nowshari และ Holtz (1993) และ Stein-Stefani และ Holtz (1994) ซึ่งตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่เลี่ยนนาน 3 ชั่วโมง อาจมีความสามารถในการมีชีวิตรอดสูง แต่ไม่สามารถตรวจสอบโดยการพิจารณาจากรูปร่างได้ จึงควรมีการตรวจสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่โดยการนำไปย้ายฝากสู่ตัวรับ

3.2 คุณภาพของตัวอ่อนที่นำมาตัดแบ่งครั้งที่

การเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนคุณภาพระดับดีเยี่ยมและดี พบว่าคุณภาพของตัวอ่อนก่อนตัดแบ่งครั้งที่ในระยะการเจริญเดียวกัน ไม่มีผลต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน โดยตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนคุณภาพดีและดีเยี่ยม มีอัตราการมีชีวิตรอดไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) เนื่องจากจำนวนเซลล์ที่ปกติและมีความสมบูรณ์ระหว่างตัวอ่อนคุณภาพดีเยี่ยมและคุณภาพดีมีความแตกต่างกันไม่มาก อัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่หลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนจึงไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Williams และคณะ (1984b)

3.3 ระยะเวลาที่ใช้ตัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อน

จากการทดลองครั้งนี้ พบว่าเวลาที่ใช้ตัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อนทุกระยะการเจริญ ไม่มีผลต่อคุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ($P>0.05$) สนับสนุนรายงานของ Lewis (1994) ที่พบว่าระยะเวลาที่ใช้ตัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อนไม่มีผลต่ออัตราการตั้งท้องเมื่อนำไปย้ายฝาก แสดงว่าวิธีการตัดแบ่งครั้งที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ สามารถตัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อนได้ในเวลาอันรวดเร็ว โดยใช้เวลาไม่เกิน 10 นาทีต่อตัวอ่อน หรือเฉลี่ยประมาณ 3 นาทีต่อตัวอ่อน การตัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อนได้รวดเร็วจึงไม่มีผลต่อคุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

3.4 สัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนหลังตัดแบ่งครั้งที่

จากการทดลองนี้พบว่า สัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst และ expanded blastocyst มีความสัมพันธ์กับคุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่หลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน โดยเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง (linear; $P<0.05$) กล่าวคือ เมื่อสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่เพิ่มขึ้น ก็มีส่วนของ inner cell mass และ trophoblast เพิ่มมากขึ้น ทำให้คุณภาพหลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนเพิ่มขึ้นด้วย บ่งถึงความสามารถในการพัฒนา ทำให้ได้ตัวอ่อนที่มีความสามารถในการมีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น ขณะที่ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มีส่วนจำนวนเซลล์น้อย จะมีคุณภาพหลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนอยู่ในระดับต่ำ บ่งบอกถึงความสามารถในการมีชีวิตรอดต่ำ สอดคล้องกับรายงานของ Heyman (1985), Niemann และคณะ (1986), Hasler และคณะ (1987), Skrzyszowska และ Smorag (1989) และ

McEvoy และ Sreenan (1990) ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนจึงต้องตัดแบ่งตัวอ่อนให้มีสัดส่วนของเซลล์ใกล้เคียงกับครึ่งหนึ่งของตัวอ่อนปกติมากที่สุด เพื่อให้มีความสามารถในการพัฒนาสูงที่สุด ตรงข้ามกับ Takeda และคณะ (1986) ที่รายงานว่า ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ตัดแบ่งครั้งได้ขนาดใหญ่ เมื่อนำไปย้ายฝากมีอัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างจากตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มิขนาดเล็ก และได้อธิบายว่า การพัฒนาของตัวอ่อนอาจไม่ได้ขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ แต่ขึ้นอยู่กับการควบคุมจากภายในตัวอ่อนเอง

สัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula, early blastocyst และ hatched blastocyst ไม่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ($P>0.05$) อาจเนื่องจากตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula มีตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่มิชีวิตรอดน้อยมาก และจำนวนตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ early blastocyst และ hatched blastocyst ที่มีสัดส่วนจำนวนเซลล์มากมีน้อย จึงไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนว่าเกิดจากสาเหตุใด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งต่อความสามารถในการพัฒนาของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเลี้ยงตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่งในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่เสริมด้วยสาร solcoseryl[®] สรุปได้ว่า

1. การเสริมสาร solcoseryl[®] ที่ปริมาณ 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน (DPBS เสริมด้วยซีรัมลูกโค 20 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะการเจริญเดียวกันในทางสถิติ

2. ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะและการพัฒนาของตัวอ่อนแพะหลังตัดแบ่งครึ่ง คือ

2.1 ระยะการเจริญของตัวอ่อน พบว่าตัวอ่อนระยะ morula และ early blastocyst แม้จะใช้เวลาตัดแบ่งครึ่งน้อยกว่าตัวอ่อนระยะ blastocyst, expanded blastocyst และ hatched blastocyst แต่เนื่องจากมีความเสียหายจากการตัดแบ่งครึ่งมาก จึงทำให้ตัวอ่อนระยะ morula มีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำกว่าตัวอ่อนระยะ early blastocyst ถึง hatched blastocyst และตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst และ hatched blastocyst มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงที่สุด

2.2 สัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง พบว่าสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst และ expanded blastocyst มีความสัมพันธ์เพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงกับคุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

3. วิธีการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะโดยไม่ต้องใช้ปิเปตดูดตัวอ่อนและน้ำมันพาราฟิน ปกคลุมหยดของน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อนในการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำมาใช้ตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้ การเสริมสาร solcoseryl® ที่ระดับ 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่มีชิรรับลูกโค ไม่มีผลในการเพิ่มอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะดัดแบ่งครึ่งในทางสถิติ แต่มีข้อสังเกตคือ เมื่อมีการเสริมสาร solcoseryl® อัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนดัดแบ่งครึ่งเพิ่มสูงกว่าไม่มีการเสริมสาร solcoseryl® ประกอบกับมีรายงานผลในทางบวกของสาร solcoseryl® ซึ่งอาจทำให้การศึกษาครั้งนี้ไม่เพียงพอจะสรุปได้ว่าสาร solcoseryl ไม่มีผลต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะดัดแบ่งครึ่ง ควรจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมในแนวทางดังนี้

1. การเสริมสาร solcoseryl® ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่มีและไม่มีชิรรับลูกโค และเปรียบเทียบการเสริมสาร solcoseryl® กับการเสริมชิรรับลูกโคในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน เพื่อทราบถึงอิทธิพลของสาร solcoseryl® ในการเลี้ยงตัวอ่อนแพะดัดแบ่งครึ่งได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

2. ระดับที่เหมาะสมของสาร solcoseryl® ที่ใช้เสริมในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ในการนำมาใช้เลี้ยงตัวอ่อนแพะดัดแบ่งครึ่ง เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพมากที่สุด

จากการที่ตัวอ่อนระยะ morula ที่นำมาใช้มีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำมาก อาจเนื่องจากผลของน้ำยาดัดแบ่งตัวอ่อนที่ใช้ หรือวิธีการที่ใช้ตรวจสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดยังไม่ดีพอ เนื่องจากตัวอ่อนยังไม่ได้มีการพัฒนาเป็นตัวสัตว์ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้าน

1. ผลของน้ำยาดัดแบ่งตัวอ่อนเปรียบเทียบกับการใช้อาหารเลี้ยงตัวอ่อน หรือน้ำยาดัดแบ่งชนิดอื่นที่ไม่ใช่คาลซุโครส ในการดัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะ ซึ่งอาจทำให้ได้วิธีการที่เหมาะสมในการดัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนแพะ

2. ตรวจสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนดัดแบ่งครึ่งโดยการนำไปย้ายฝากสู่ตัวรับ เพื่อดูความสามารถในการพัฒนาของตัวอ่อนแพะดัดแบ่งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนว่าสามารถพัฒนาเป็นลูกสัตว์ได้หรือไม่