บทที่ 7

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการเจริญของโอโอไซต์เพื่อปฏิสนธินอกร่างกายและวิธีการแช่แข็งที่จะเป็นไปได้ในครั้งนี้ สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. โอโอไซต์สุกรที่เลี้ยงใน IVM มีเดียม จะเริ่มมีเปอร์เซนต์การสุกของไข่สูงถึง 80.5% เมื่อเลี้ยงได้ 36 ชม. และเมื่อเลี้ยงไปจนถึง 48 ชม. มีไข่สุกสูงถึง 97.9% ดังนั้น โอโอไซต์ที่เลี้ยงนานตั้งแต่ 36 ชม. เป็นต้นไป สามารถใช้ในการปฏิสนธิได้
2. น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ที่สุขภาพดี มีอัตราการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิตั้งแต่ 85% ขึ้นไป สามารถใช้ในการปฏิสนธินอกร่างกายได้ โดยให้ผลการปฏิสนธิและการเจริญถึง 2-4 เซลล์ แตกต่างกันไปในแต่ละตัว
3. ระบบการเลี้ยงไข่ให้สุกด้วย IVM มีเดียม นานตั้งแต่ 36 ชม. ขึ้นไป แต่ไม่เกิน 48 ชม. แล้วนำมาปฏิสนธินอกร่างกาย ด้วยน้ำเชื้อสุกรที่รีดมาเก็บไว้ 8-19 ชม. ล้างแล้วทำการคาพาซิเตชัน ด้วย มีเดียม M199B ที่มี pH 7.8 4 ชม. โดยทำการปฏิสนธิด้วยความเข้มข้นของอสุจิ 50,000 ตัว/หยด เป็นระบบที่ได้ผลตามเกณฑ์ปกติ
4. รังไข่สุกรที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์สามารถเก็บรักษาไว้ในน้ำเกลือผสมกานามัยซิน ที่อุณหภูมิห้องปรับอากาศ (24^{o}ซ) ได้นานที่สุด 8 ชม. โดยไม่ทำให้ความสามารถในการเจริญจนเป็นไข่สุกลดลง แต่ถ้าต้องการจะเก็บรักษาไว้ใช้ประโยชน์นานกว่า 8 ชม. แต่ไม่เกิน 18 ชม. ควรจะทำการคัดเลือกโอโอไซต์ที่จะเข้าเลี้ยงอย่างพิถีพิถัน
5. สารช่วยป้องกันการเกิดเกล็ดน้ำแข็งในเซลล์ ที่ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ ที่มีผลกระทบต่อการเจริญของโอโอไซต์สุกรน้อยที่สุด 3 ชนิด ได้แก่ EG PROH และ DMSO ซึ่งควรใช้สำหรับการทดลองในการทำ ไวตริฟิเคชั่น ต่อไป
6. การแช่แข็งโอโอไซต์สุกร ด้วยวิธีการลดอุณหภูมิลงช้า ๆ คงจะไม่เหมาะสำหรับโอโอไซต์สุกร

7. EG ที่ความเข้มข้นสูง 6.25-7.5 โมลาร์ ใน VTM แต่ละชนิด ไม่มีผลทำให้โอโอไซต์ของสุกรสุกแตกต่างจากโอโอไซต์ปกติ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
8. การแช่แข็งโอโอไซต์สุกร ด้วยวิธี ไวตริฟิเคชัน โดยใช้ VTM ทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถช่วยทำให้โอโอไซต์สุกรมีชีวิตรอดหลังจากทำละลาย และในการทำไวตริฟิเคชัน ได้ทำลายทั้งส่วนนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของโอโอไซต์
9. การแช่แข็งไข่สุกสุกรด้วยวิธีไวตริฟิเคชัน โดยใช้ VTM ทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถช่วยทำให้ไข่สุกรมีชีวิตรอด หลังจากทำละลาย แต่ได้ทำลายส่วนนิวเคลียสของไข่สุก และ ไม่สามารถปฏิสนธิได้

ข้อเสนอแนะ

1. การปรับปรุงระบบปฏิสนธินอกร่างกายในสุกรให้ได้ผลดียิ่งขึ้น น่าจะมีการปรับโอกาสให้อสุจิได้ผสมรวมกับไข่ที่สุกในเวลาที่เหมาะสมในสภาวะ ที่ทั้งสองฝ่ายมีความพร้อมมากที่สุด แนวทางหนึ่งที่สามารถใช้ความรู้จากการทดลองที่ 1 มาแก้ไขคือ การนำอสุจิที่ผ่านการคาพาซิเตชั่น แล้วมาผสมรวมกับไข่สุกมากกว่า 1 ครั้งในเวลาทุก ๆ 2 ชม. ซึ่งเป็นระยะเวลาที่อสุจิสามารถมีการเคลื่อนไหวได้ดี โดยอาจจะเริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 34 หรือ 36 ของการเลี้ยงโอโอไซต์จนถึงชั่วโมงที่ 40 หรือ 42 ซึ่งน่าจะมีการศึกษาต่อไป
2. รังไข่สุกรเป็นแหล่งของโอโอไซต์ที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นแหล่งตัวอย่างศึกษาการพัฒนาทางชีววิทยาของเซลล์สืบพันธุ์ ที่ราคาถูกและหาได้ทั่วไปในประเทศไทยไม่มีข้อจำกัด จากการศึกษาในครั้งนี้ ทำให้ทราบว่าเราสามารถเก็บรังไข่ไว้ในน้ำเกลือผสมยาปฏิชีวนะที่อุณหภูมิห้องปรับอากาศ (24°ซ) ได้นาน 8 ชม. โดยคุณภาพโอโอไซต์ไม่ต่างจากโอโอไซต์ที่เจาะจากรังไข่ที่ได้มาใหม่ๆหรือการเก็บรังไข่ไว้ 12 หรือ 18 ชม. คุณภาพโอโอไซต์ก็ลดลงบ้างเล็กน้อย ดังนั้น เราสามารถที่จะใช้โอโอไซต์สุกรเป็นตัวอย่างสำหรับการศึกษา และฝึกหัดในบทเรียนการปฏิสนธินอกร่างกายได้เป็นอย่างดี

3. เนื่องจากรังไข่สุกรหาได้ทั่วไป จึงเป็นการดีที่จะใช้โอโอไซต์สุกในการทดสอบเทคนิคใหม่ ๆ หรือใช้ทดลองเพื่อหาความรู้ใหม่ในเบื้องต้นก่อนที่จะดำเนินการจริงกับโอโอไซต์ชนิดที่เราต้องการ จึงเป็นการประหยัดทั้งแรงงานและเงินทุนในการศึกษาวิจัย
4. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างภายในเซลล์ไข่ อันเนื่องมาจากการลดอุณหภูมิหรือการแช่แข็ง เพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงที่ทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของเซลล์ไข่โดยสิ้นเชิงหลังการแช่แข็ง
5. ควรมีการศึกษาถึงการป้องกันการถูกทำลายโครงสร้างภายในเซลล์ไข่ อันเนื่องมาจากการแช่แข็ง โดยไกลโคโปรตีนป้องกันการเกิดเป็นน้ำแข็ง หรือสารสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างคล้ายกัน หรือการดูดเอาไลปิดออกจากเซลล์ก่อนแช่แข็ง เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการป้องกันและความเป็นไปได้ง่ายในทางปฏิบัติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย