บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผล

จากการศึกษาความสำคัญของกรดอะมิโน 4 ชนิด (กลูตามีน, เฟนนิลอาลานีน, ไอโซลูซีน และ เมทไธโอนีน) ต่อการปฏิสนธิและการเจริญเติบโตของเอมบริโอของแฮมสเตอร์ในจานทดลองพบว่า กรดอะมิโนที่เติมลงไปในน้ำยาปฏิสนธิไม่ช่วยให้อัตราการปฏิสนธิเพิ่มขึ้นเหนือกว่าน้ำยาปฏิสนธิที่ไม่เติมกรดอะมิโน ไม่ว่าจะเติมพร้อมกันทั้ง 4 ชนิด หรือเติมเพียงชนิดเดียว โดยพบว่าอัตราการปฏิสนธิในน้ำยาที่ใช้ในการทดลองนี้ทุกชนิดสูงกว่า 90% และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แม้ว่าการปฏิสนธิของอสุจิและไข่ภายนอกร่างกายขึ้นกับปัจจัยหลายชนิด เช่น สารประกอบเกลือแร่และไอออนในน้ำยาปฏิสนธิ, สภาวะแวดล้อมภายนอกร่างกายที่เหมาะสม แต่ปัจจัยที่สำคัญยังขึ้นกับตัวอสุจิเองด้วย เนื่องจากวิธีการนำอสุจิมาทำปฏิสนธิภายนอกร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมนั้น ไม่ว่าจะเป็นอสุจิที่ได้จากการหลั่งออกมาอย่างเช่นใน แมว, สุนัข, คน หรือนำอสุจิมาจาก cauda epididymis อย่างเช่นใน หนูตะเภา, แฮมสเตอร์, เมาซ์, แรท ก็ตามพบว่า อสุจิที่เดินทางผ่านบริเวณ cauda epididymis ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมทุกชนิดนั้นมีการเจริญพร้อมทั้งทางด้านสรีรวิทยา, ชีวเคมี และมีการเปลี่ยนแปลงด้านรูปร่างให้เหมาะสม (Orgebin - Crist, 1969; Bedford, 1975; 1979; Hamilton, 1977) โดยเฉพาะที่บริเวณ plasma membrane จะมีการเปลี่ยนแปลงยินยอมให้สารบางอย่างจากสภาวะแวดล้อมภายนอก เช่น seminiferous tubules และ cauda epididymis ซึมผ่านเข้าไปเก็บเป็นสารอาหารและสารให้พลังงาน (Yanagimachi, 1975; Mohri และ Yanagimachi, 1980) ดังนั้นอสุจิที่ผ่านบริเวณ cauda epididymis จึงสามารถเคลื่อนไหวได้เองจากพลังงานที่สะสมไว้ภายในเซลล์ (Hoshi และคณะ, 1982a; 1982b) และ

สามารถผ่านกระบวนการ คาพาซิเตชั่น และ อะโครโซม รีแอคชั่น ได้ในน้ำยาปฏิสนธิที่มีสารประกอบเกลือแร่และไอออนที่เหมาะสม (Yanagimachi, 1972b; Yanagimachi และคณะ, 1976; Mahi และ Yanagimachi, 1978; Rogers, 1978; Mrsny และคณะ, 1979) นักวิจัยพบว่า Ca^{2+} มีความจำเป็นและเป็นตัวริเริ่มให้เกิดกระบวนการ อะโครโซม รีแอคชั่น (Yanagimachi, 1972a; Yanagimachi และ Usui, 1974) นอกจากนี้ยังมีไอออนและสารประกอบหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อการเกิดกระบวนการ อะโครโซม รีแอคชั่น เช่น K^{+} (Toyoda และ Chang, 1974; Mrsny และ Meizel, 1980), Mg^{2+} (Johnson, 1975; Rogers และ Yanagimachi, 1976), สารที่ให้พลังงานพวก ไพรูเวท, แลคเตท และกลูโคส (Pavlok, 1968; Miyamoto และ Chang, 1973a; Rogers และ Yanagimachi, 1975; Bavister และ Yanagimachi, 1977; Fraser และ Guinn, 1980; Okamoto และ Toyoda, 1980) และสาร macromolecule พวก BSA (Yanagimachi, 1969a; 1970; Miyamoto และ Chang, 1973a; Hoppe และ Whitten, 1974; Johnson, 1975; Blank และคณะ, 1976; Lui และคณะ, 1977; Davis, 1978; Meizel, 1978; Lui และ Meizel, 1979) ในแฮมสเตอร์นักวิจัยพบว่ามีสารบางชนิดที่ช่วยในการเคลื่อนไหวของอสุจิแฮมสเตอร์ เรียกว่า sperm motility factors (SMF) (Yanagimachi, 1969a; 1970; Bavister, 1975b; Bavister และคณะ, 1976; Bavister และ Yanagimachi, 1977) ซึ่งต่อมาพบสาร SMF เหล่านี้เป็นพวกสารสื่อประสาท เช่น epinephrine, taurine และ hypotaurine (Cornett และ Meizel, 1978; Mrsny และคณะ, 1979) ช่วยในการกระตุ้นการเคลื่อนไหวของอสุจิก่อนเกิดกระบวนการอะโครโซม รีแอคชั่น เซลล์อสุจิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมที่ผ่านกระบวนการอะโครโซม รีแอคชั่นแล้วสามารถเจาะทะลุผ่านชั้น zona pellucida เข้าไปผสมกับไข่ได้ โดยอสุจิที่ผ่านกระบวนการอะโครโซม รีแอคชั่น จะหลั่งเอนไซม์ อะโครซิน ออกมาจากบริเวณ equatorial

segment ช่วยในการรวมติดของ inner acrosomal membrane และเจาะทะลุชั้น zona pellucida เข้าไปผสมกับไข่ได้ (Yanagimachi, 1982) ซึ่งน้ำยาปฏิสนธิที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ทุกชนิดมีปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วทั้งสิ้น ดังนั้นการเติมกรดอะมิโน 4 ชนิด หรือการเติมกรดอะมิโนเพียงบางชนิดในน้ำยาปฏิสนธิจึงอาจไม่มีความจำเป็นหรือช่วยส่งเสริมการเจาะทะลุชั้น zona pellucida เข้าไปผสมกับไข่ การปฏิสนธิในน้ำยาที่เติมและไม่เติมกรดอะมิโนจึงให้ผลไม่แตกต่างกัน

มีรายงานหลายฉบับชี้ให้เห็นว่า กรดอะมิโน 4 ชนิด ได้แก่ กลูตามีน, เฟนนิลอาลานีน, ไอโซลูซีน และ เมทไธโอนีน มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของไข่ของแฮมสเตอร์ตั้งแต่อยู่ในรังไข่ (Gwatkin และ Haidri, 1973) มีผลต่อการแบ่งตัวของเอมบริโอของแฮมสเตอร์จากระยะ 1- เซลล์ เป็น 2- เซลล์ (Juetten และ Bavister, 1983) และจากระยะ 8- เซลล์ จนถึงระยะบลาสโตซิส (Bavister และคณะ, 1983a) จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่า ไข่ของแฮมสเตอร์ที่ได้จากการปฏิสนธิซึ่งเติมกรดอะมิโนทั้ง 4 ชนิด แล้วเพาะเลี้ยงเอมบริโอที่ได้ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกรดอะมิโนทั้ง 4 ชนิด แบ่งตัวเป็นเอมบริโอระยะ 2- เซลล์ (73.49%) ได้มากกว่าไข่ที่ได้จากการปฏิสนธิในน้ำยาปฏิสนธิที่ไม่เติมกรดอะมิโน แล้วเพาะเลี้ยงต่อในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกรดอะมิโน (59.76%) และมากกว่าไข่ที่ได้จากการปฏิสนธิและเพาะเลี้ยงต่อในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมกรดอะมิโนตั้งแต่เริ่มการปฏิสนธิและการแบ่งตัว (38.31%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (จากตารางเปรียบเทียบค่า mean ที่ 3.3) ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องและสนับสนุนการทดลองของ Juetten และ Bavister (1983) ที่ว่ากรดอะมิโนมีส่วนช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเอมบริโอจากระยะ 1- เซลล์ เป็นเอมบริโอระยะ 2- เซลล์ ได้เพิ่มขึ้น Juetten และ Bavister ยังได้เสนอแนะว่า กรดอะมิโนเหล่านี้น่าจะหลั่งมาจากคิวมูลัสเซลล์ และเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของไข่ตั้งแต่อยู่ในรังไข่จนกระทั่งตกไข่ นอกจากนั้นยังมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของไข่

ตั้งแต่เริ่มการปฏิสนธิจนกระทั่งแบ่งตัวจากระยะ 1-เซลล์ ถึงระยะ 2-เซลล์ (Juetten และ Bavister, 1983; Leibfried และ Bavister, 1983)

จากการศึกษาความสำคัญของกรดอะมิโนหลายชนิดต่อการเจริญและการแบ่งตัวของเซลล์พบว่า กรดอะมิโนจำพวก essential amino acids เท่านั้นที่มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอ (Gwatkin, 1966; Spindle และ Pederson, 1973; Juurlink และ Fedoroff, 1977) สำหรับในแฮมสเตอร์พบว่า กลูตามีน ที่เติมในน้ำยาเพาะเลี้ยงเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นและสำคัญมากกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่นต่อการเจริญของไข่ตั้งแต่อยู่ในรังไข่ (Gwatkin และ Haidri, 1973; 1974), มีผลต่อการแบ่งตัวของเอมบริโอของแฮมสเตอร์จากระยะ 1-เซลล์เป็นระยะ 2-เซลล์ (Juetten และ Bavister, 1983), มีผลต่อการแบ่งตัวของเอมบริโอจากระยะ 8- เซลล์ เจริญถึงระยะบลาสโตซิส (Carney และ Bavister, 1987) และกลูตามีนยังมีความจำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์จากรังไข่ และเซลล์สร้างไฟเบอร์ของ chinese hamster ด้วย (Donnelly และ Scheffler, 1976; Hoffee, 1979) นอกจากนี้กลูตามีนยังเป็นแหล่งให้พลังงานเป็นส่วนใหญ่ในการเจริญและการแบ่งตัวของเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเกือบทุกชนิด (Eagle, 1955; Zielke และคณะ, 1984) โดยเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมต้องการกลูตามีนมากกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ ถึง 5-20 เท่า (Eagle, 1955) และจากการศึกษาการวัด oxidation rate ของกลูโคส และ กลูตามีน ในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมหลายชนิดพบว่า oxidation rate ของกลูตามีนมากกว่ากลูโคส อย่างเช่น การวัด oxidation rate ของ human diploid fibroblasts พบว่า oxidation rate ของการออกซิไดซ์กลูตามีน (98 nmol/h per mg cell protein) มากกว่า oxidation rate ของการออกซิไดซ์กลูโคส (2 n mol/h per mg cell protein) 50 เท่า (Sumbilla และคณะ, 1981) เนื่องจากกลูตามีนเป็นสารตั้งต้นของ purine และ pyrimidine ในการสร้างกรด nucleotide (Bender,

1985) และการออกซิไดซ์กลูตามีนจะให้กลูตาเมท, คาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนใหญ่และแลคเตทเป็นส่วนน้อย (Stoner และ Merchant, 1972; Zielke และคณะ, 1980) แต่การออกซิไดซ์กลูโคสจะให้แลคเตทเป็นส่วนใหญ่ และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนน้อย (Eagle และคณะ, 1958; Morell และ Froesch, 1973) จากการที่การออกซิไดซ์กลูตามีนแล้วให้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนใหญ่ และการออกซิไดซ์กลูโคสให้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนน้อย Stoner และ Merchant (1972) ให้ข้อเสนอแนะว่า กลูตามีนน่าจะเป็นแหล่งให้พลังงานส่วนใหญ่ในการเจริญและการแบ่งตัวของเซลล์มากกว่ากลูโคสและกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ ในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม แต่การทดลองครั้งนี้ต่างจากการศึกษาของนักวิจัยรุ่นก่อน ๆ โดยพบว่า ในน้ำยาเพาะเลี้ยง TL-PVA ที่มีกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ 3 ชนิด (รวมกลูตามีนด้วย) แต่ไม่มีเมทไธโอนีน การแบ่งตัวของเอมบริโอจากระยะ 1-เซลล์ ถึงระยะ 2- เซลล์ ต่ำกว่าในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดอะมิโนชนิดอื่น 3 ชนิด แต่ไม่มีกลูตามีน (21.51% vs 62.87% ตารางที่ 3.5) นอกจากนี้การเจริญของเอมบริโอจากระยะ 1- เซลล์ ถึงระยะ 2- เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่มีเมทไธโอนีนยังต่ำกว่าในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่มีไอโซลูซีนและเฟนนิลอาลานีนอีกด้วย (21.51% vs 55.56% vs 60%) ผลการทดลองนี้ชี้แนะว่าเมทไธโอนีน น่าจะมีความสำคัญต่อการเจริญและการแบ่งเซลล์ของเอมบริโอจาก 1- เซลล์ เป็น 2- เซลล์ มากกว่ากรดอะมิโนอื่น ๆ ที่ใช้ นอกจากนี้จากการทดลองซึ่งเติมเมทไธโอนีน, เฟนนิลอาลานีน, ไอโซลูซีน หรือกลูตามีนชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวลงในน้ำยาเพาะเลี้ยง TL-PVA พบว่าน้ำยาเพาะเลี้ยง TL-PVA ที่เติมกลูตามีนให้ผลส่งเสริมการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอจากระยะ 1-เซลล์ ถึงระยะ 2-เซลล์ น้อยที่สุด น้อยกว่าน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมเฟนนิลอาลานีน, ไอโซลูซีน และ เมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (20.30% vs 60.77% vs 43.09% vs 66.67% ตารางที่ 3.8) และน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมเมทไธโอนีนเพียงชนิดเดียวให้ผลในการส่งเสริมการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอถึงระยะ 2- เซลล์ มากที่สุด (66.67%) รองลงมาได้แก่ เฟนนิลอาลานีน (60.77%) และ

ไอโซลูซีน (43.09%)

มีรายงานของนักวิจัยหลายท่านพบว่า การเติมทั้งกลูโคสและกลูตามีนในน้ำยาเพาะเลี้ยงเข้าด้วยกัน เซลล์จะออกซิไดซ์กลูตามีนได้น้อยลง (Donnelly และ Scheffler, 1976; Reitzer และคณะ, 1979; Zielke และคณะ, 1978; Sumbilla และคณะ, 1981) เช่นในการเพาะเลี้ยงเซลล์ human fibroblasts ในน้ำยาเพาะเลี้ยง ITU ที่เติม 2.0 mM ของกลูตามีน และเติมกลูโคสในปริมาณความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0-10 mM พบว่าในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมกลูโคส oxidation rate ของกลูตามีน 80.3 ± 8.6 และถ้าเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสขึ้นเรื่อย ๆ oxidation rate ของกลูตามีนจะลดลงเรื่อย ๆ และกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.2 mM oxidation rate ของกลูตามีนจะลดลงครึ่งหนึ่ง (46.1±2.9) เมื่อเปรียบเทียบกับในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมกลูโคส ในขณะที่ถ้าเติมสารให้พลังงานชนิดอื่น เช่น ไพรูเวท, palmitate, octanoate, acetoacetate ลงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกลูตามีน เซลล์สามารถออกซิไดซ์กลูตามีนได้ปกติ และ oxidation rate ของกลูตามีนไม่ลดลง (Donnelly และ Scheffler, 1976; Reitzer และคณะ, 1979; Zielke และคณะ, 1978; Sumbilla และคณะ, 1981) นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ human fibroblasts สามารถเจริญได้ดีในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมกลูโคส แต่มีกลูตามีน, uridine, inosine และ thymidine แทนกลูโคสได้ (Hoffee, 1979; Wice และคณะ, 1981) และพบว่าเซลล์สามารถออกซิไดซ์กลูตามีนได้เพิ่มมากขึ้นในน้ำยาเพาะเลี้ยงนี้ (Zielke และคณะ, 1976; 1978; 1984; Sumbilla และคณะ, 1981) ดังนั้นการที่เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมสามารถออกซิไดซ์กลูตามีนได้น้อยลง ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกลูโคส (Zielke และคณะ, 1984) หรือการที่เซลล์สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่มีกลูโคส แสดงให้เห็นว่าการออกซิไดซ์กลูตามีนมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมลงไปในน้ำยาเพาะเลี้ยง นักวิจัยยังไม่ทราบกลไกที่กลูโคสไปขัดขวาง

การออกซิไดซ์กลูตามีนของเซลล์ว่าเป็นอย่างไร แต่นักวิจัยหลายท่านให้ข้อเสนอแนะว่า กลูโคสที่เติมในน้ำยาเพาะเลี้ยงไม่ได้ขัดขวางการออกซิไดซ์ของเซลล์โดยตรง แต่จะมีผลที่ NAD^+ โดยไปลดความสามารถของ NAD^+ หรือลดศักยภาพให้ต่ำลง ทำให้กลูตามีนไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น α - ketoglutarate ได้ ดังนั้นการออกซิไดซ์กลูตามีนจึงลดลง (Crabtree, 1929; Koobs, 1972; Seshagiri และ Bavister, 1989) ด้วยเหตุผลดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าการเติมกลูตามีนเพียงชนิดเดียวในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบในการทดลองนี้เป็นผลให้การแบ่งตัวของเอมบริโอจากระยะ 1- เซลล์ เป็นระยะ 2- เซลล์ น้อยที่สุด (20.30% จากตาราง 3.8) เนื่องจากเอมบริโอไม่สามารถออกซิไดซ์กลูตามีนได้เต็มที่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกลูโคส แต่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกลูโคสและเมทไธโอนีนหรือเฟนนิลอาลานีน หรือไอโซลูซีน เพียงชนิดเดียว เอมบริโอสามารถแบ่งตัวจากระยะ 1- เซลล์ เป็นระยะ 2- เซลล์ ได้มาก เนื่องจากกลูโคสไม่ได้ไปขัดขวางการออกซิไดซ์กรดอะมิโนทั้ง 3 ชนิดนี้

จากการศึกษาถึงความอยู่รอดของเอมบริโอที่ได้จากการปฏิสนธิและเพาะเลี้ยงจนเจริญถึงระยะ 2-เซลล์ ภายนอกร่างกาย โดยทำการถ่ายฝากเอมบริโอเหล่านี้ไปยังตัวรับที่กระตุ้นให้ตั้งท้องเทียม ในระยะเวลาที่สอดคล้องกับอายุของเอมบริโอ เปรียบเทียบกับการถ่ายฝากเอมบริโอระยะ 2- เซลล์ที่ได้จากการปฏิสนธิและเจริญอยู่ในตัวแม่ โดยนับจำนวนฟีตัสที่ฝังตัวในมดลูกของตัวรับในวันที่ 8 ของการตั้งท้องเทียม และนับจำนวนลูกอ่อนที่ครบกำหนดคลอดพบว่า จำนวนฟีตัสที่ฝังตัวที่ผนังมดลูกของตัวรับในกลุ่มทดลอง (10.83%) น้อยกว่าจำนวนฟีตัสที่ฝังตัวที่ผนังมดลูกในกลุ่มควบคุม (18.33%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ฟีตัสเหล่านี้ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อจนครบอายุคลอดเป็นลูกปกติได้ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง อาจเนื่องจากว่าในหนูแฮมสเตอร์การถ่ายฝากเอมบริโอระยะ 1 - 2 เซลล์ ไปยังท่อนำไข่ของตัวรับที่ตั้งท้องเทียมในวันที่ 1 หรือ 2 เอมบริโอสามารถจะเจริญและแบ่งตัวต่อได้น้อยมาก (Whittingham และ Bavister, 1977) แต่ถ้าทำ

การถ่ายฝากเอมบริโอระยะ 4-เซลล์ จนถึงระยะบลาสโตซีสไปยังมดลูกของตัวรับพบว่า เอมบริโอสามารถเจริญและมีชีวิตจนครบกำหนดคลอดได้มากกว่าการถ่ายฝากไปยังท่อนำไข่ (Sato และ Yanagimachi, 1972) ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Whittingham และ Bavister (1977) ที่ว่าการถ่ายฝากเอมบริโอระยะ 2- เซลล์ ไปยังท่อนำไข่ เอมบริโอสามารถเข้าฝังตัวที่ผนังมดลูกและมีชีวิตรอดจนครบกำหนดคลอดได้น้อย และการที่ฟีตัสในกลุ่มควบคุมสามารถฝังตัวในผนังมดลูกมากกว่าฟีตัสในกลุ่มทดลองอาจเนื่องมาจาก เอมบริโอระยะ 2-เซลล์ ที่ได้จากกลุ่มทดลองอยู่ในสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงภายนอกร่างกายเป็นเวลานานกว่า (20-30 ชั่วโมง) ในกลุ่มควบคุม (0-1 ชั่วโมง) เอมบริโอจากกลุ่มทดลองอาจมีสภาพอ่อนแอกว่ากลุ่มควบคุมจึงทำให้มีเอมบริโอจากกลุ่มทดลองฝังตัวและเจริญเป็นฟีตัสได้น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม (Whittingham, 1972; Yodyingyuad, 1982) สาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้เอมบริโอที่ถ่ายฝากเข้าในท่อนำไข่เข้าฝังตัวที่ผนังมดลูกและเจริญจนครบกำหนดคลอดได้น้อย อาจเป็นเพราะเอมบริโอเหล่านั้นเคลื่อนลงสู่มดลูกช้าเกินไป โดยไปค้างอยู่ในท่อนำไข่นานเกิน 3 วัน ทำให้สภาพแวดล้อมในมดลูกไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการฝังตัวของเอมบริโอที่เคลื่อนลงสู่มดลูกในเวลาต่อมา (Noyes และ Dickmann, 1961) ซึ่งโดยปกติเอมบริโอจะเดินทางผ่านท่อนำไข่ไปยังมดลูกใช้เวลาเพียง 3 วันเท่านั้น

การวิจัยในครั้งนี้มุ่งหวังเพื่อจะศึกษาผลของกรดอะมิโน 4 ชนิด ต่อการปฏิสนธิและการแบ่งตัวของเอมบริโอของแฮมสเตอร์จากระยะ 1- เซลล์ เจริญถึงระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่นิยมใช้เพาะเลี้ยงเอมบริโอของแฮมสเตอร์ พบว่าน้ำยาที่ใช้ในการทำปฏิสนธิให้ผลดีอยู่แล้ว โดยอัตราการปฏิสนธิสูงถึงกว่า 90% ที่เป็นเช่นนี้คงเนื่องมาจากน้ำยาปฏิสนธิที่ใช้มีองค์ประกอบเกลือแร่และสารประกอบสำคัญต่าง ๆ อยู่พร้อม ยิ่งกว่านั้นยังมีสาร epinephrine และ hypotaurine ช่วยกระตุ้นการเคลื่อนไหวของอสุจิอีกด้วย ดังนั้นกรดอะมิโนทั้ง 4 ชนิด ที่ศึกษาจึงไม่ใช่สิ่งจำเป็นและ

ไม่ช่วยส่งเสริมในการปฏิสนธิสูงขึ้น อย่างไรก็ตามกรดอะมิโนเหล่านี้ก็มีผลต่อการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอจากระยะ 1- เซลล์ ไปเป็น 2-เซลล์ อยู่บ้างไม่มากก็น้อย สิ่งที่น่าสนใจคือ เอมบริโอเจริญและแบ่งตัวในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกลูตามีนได้น้อยกว่าในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ อาจเป็นไปได้ว่ากลูโคสที่เป็นส่วนประกอบในน้ำยาเพาะเลี้ยง ไปลดการออกซิไดซ์กรดอะมิโนโดยเฉพาะกลูตามีน (Donnelly และ Scheffler, 1976; Reitzer และคณะ, 1979; Zielke และคณะ, 1978; Sumbilla และคณะ, 1981) โดยยับยั้งการเปลี่ยนสารกลูตามีนไม่ให้เป็น Amphibolic Intermediate ทำให้เอมบริโอไม่สามารถออกซิไดซ์กลูตามีนเพื่อให้พลังงานได้ จึงเป็นผลให้การเจริญของเอมบริโอลดต่ำลง และอาจเป็นสาเหตุให้เอมบริโอไม่สามารถเจริญผ่านระยะ 2-เซลล์ได้ ดังนั้นการศึกษาผลของกลูโคสต่อการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอของแฮมสเตอร์จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจศึกษาให้ละเอียดต่อไปในภายหน้า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย