บทที่ 7

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการคาพาซิเตทอสุจิกระบือปลักแช่แข็งด้วยเฮปาริน โดยการเสาะแสวงหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในเวลาที่เหมาะสมในระดับความลดหลั่นดังนี้ ความเข้มข้นเฮปาริน 10, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และในการจัดเวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที ต่อความเข้มข้นด้วยการทดสอบอสุจิในการเกิดการคาพาซิเตท และอะโครโซมรีแอ็คชั่น โดยการให้อสุจิเจาะไอโอไซต์ของแฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนาเพลลูซิดา ที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีปริมาตร 200, 100 และ 25 ไมโครลิตร ใช้จำนวนไอโอไซต์ต่อหยดน้ำยาเป็น 15-25, 15-20 และ 5 ไอโอไซต์ ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบการปฏิสนธิโดยการดูโปรนิวเคลียสของอสุจิ พบว่าปริมาณของเฮปารินที่ให้ผลสูงสุด คือ 10 ถึง 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเวลา 15 ถึง 45 นาที (69.2-73.3%) เมื่อใช้ปริมาตรของหยดน้ำยาเพาะเลี้ยง 25 ไมโครลิตร ต่อ 5 ไอโอไซต์ รูปแบบของการหยดน้ำเพาะเลี้ยง พบว่ามีอิทธิพลต่ออัตราการเจาะไข่ เป็นต้นว่า หยดน้ำยา6 หยด ต่อ 1 จานเพาะเลี้ยงในแนวเส้นรอบวง พบว่า มีศักยภาพในการปฏิสนธิดีที่สุดของรูปแบบทั้งหมด 6 รูปแบบ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการใช้อสุจิแช่แข็ง ซึ่งเหมาะสำหรับเลี้ยงในหลอดทดลองในเวลาสั้น ถ้านำไปใช้ในอสุจิสด อาจจะได้ผลดีในช่วงเวลาที่ยาวนานกว่านี้ และควรพิจารณาความเหมาะสมต่าง ๆ เมื่อนำไปใช้ในการปฏิสนธิในหลอดแก้วของกระบือจริง ๆ เนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาเลี้ยงนานกว่านี้ ปริมาตรของหยดน้ำยาที่เล็กเกินไปอาจไม่เหมาะสม ผู้ศึกษามีข้อเสนอแนะสำหรับผู้สนใจที่จะศึกษาเรื่องนี้ต่อไป ดังนี้

1. น้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ ควรมีการปรับปรุงส่วนประกอบของน้ำยาเพาะเลี้ยงให้เหมาะสม เช่น ปริมาณของแคลเซียม ปริมาณของ BSA ที่ใช้
2. วิธีการเตรียมอสุจิการแยกอสุจิที่เคลื่อนที่ได้และไม่ได้ออกจากกัน ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้สารละลายเบอร์คอล ซึ่งได้ผลดีมากแต่ก็ต้องใช้เวลาในการเตรียมพอสมควร เมื่อไม่จำเป็นต้องใช้ปริมาณของอสุจิมากเกินไป วิธีการแยกอสุจิ

โดย swim up ก็เป็นวิธีที่ทำได้สะดวกและรวดเร็ว โดยเฉพาะในงานปฏิสนธิในหลอดแก้วของกระบือ ซึ่งจำเป็นต้องใช้ความรวดเร็วในการเตรียมอสุจิ

3. การเก็บไข่จากแฮมสเตอร์ ระยะเวลาในการฉีดฮอร์โมน ควรทำเป็นมาตรฐานเหมือนกัน นอกจากนี้สภาพในการเคลื่อนย้ายไข่ วิธีการเอาไข่ออกจากท่อนำไข่ การย่อยโซนาเพลลูซิดาออก ตลอดจนการล้างไข่ในน้ำยาเพาะเลี้ยง ควรทำอย่างรวดเร็วและระมัดระวัง ไม่ควรให้ไข่อยู่ที่อุณหภูมิห้องนานเกินไป
4. การปฏิสนธิในหลอดแก้ว ไม่จำเป็นต้องใช้อสุจิในปริมาณที่มากเกินไป ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เพียง 500,000 ตัว อสุจิที่มากเกินไปไม่มีผลในการเพิ่มเปอร์เซนต์การปฏิสนธิ การเพิ่มการปฏิสนธิขึ้นอยู่กับว่าอสุจินั้นเกิดการคาพาซิเตทและอะโครโซม รีแอ็คชั่น หรือไม่ ซึ่งในการใช้เฮปารินกระตุ้นนั้นในกระบือได้ผลดีเช่นเดียวกับโค

การศึกษาโครโมโซม จากอสุจิกระบือปลักในครั้งนี้ยังไม่สามารถตรวจสอบโครโมโซมได้ จำเป็นต้องปรับปรุงเทคนิคในการศึกษาต่อไป ซึ่งมีข้อที่ควรพิจารณา คือ

1 ไข่ที่จะนำไปศึกษาโครโมโซมต่อ ควรจะอยู่ในตู้บ่มเลี้ยงอย่างต่อเนื่องไม่ควรนำออกมาภายนอกตู้นานเกินไป
2. ในการตรวจสอบการปฏิสนธิควรแบ่งไข่ออกมาประเมินผลเพียงส่วนหนึ่ง ไม่ควรนำไข่ทั้งหมดมาตรวจสอบ ซึ่งมักจะทำให้ไข่ไม่พัฒนาต่อในระยะที่เกิดโปรนิวเคลียสเปอร์เซนต์ไข่ที่เกิดปฏิสนธิสูงย่อมมีโอกาสประสบผลสำเร็จสูง
3. ระยะเวลาในการบ่มเลี้ยง เพื่อให้โครมาตินเกิด decondensation ในสัตว์แต่ละชนิดอาจแตกต่างกัน
4. ความเข้มข้นของสารที่ยับยั้ง การสร้าง spindle fiber
5. pH ของน้ำยาเพาะเลี้ยง มีผลต่อคุณภาพของโครโมโซมที่ได้
6. เทคนิคในการ fix ไข่บนสไลด์ ความสูงของหยดน้ำยา มีผลต่อการกระจายตัวของโครโมโซม

ในการศึกษาการคาพาซิเตทอสุจิ และการศึกษาโครโมโซมอสุจิของกระบือปลัก ในครั้งนี้นับเป็นรายงานการศึกษาครั้งแรก ซึ่งข้อมูลที่ค้นพบยังต้องการศึกษาเพิ่มเติมอีกมาก กว่าที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการปฏิสนธิไข่กระบือในหลอดแก้ว