หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ผลการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอระยะ ต่างๆ ที่ผ่านการแช่แข็งและไม่ผ่านการแช่แข็ง (กลุ่มควบคุม)

1.1 เอมบริโอระยะ 2- เซลล์

เมื่อนำเอมบริโอระยะ 2- เซลล์ มาทำการแช่แข็ง และเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการละลาย และเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF จนถึงระยะบลาสโตซิสจำนวน 130 ตัว ผลการทดลอง ดังตารางที่ 3.1 พบว่าภายหลังการแช่แข็งและทำการละลายเอมบริโอที่เก็บได้มีจำนวน 125 ตัว คิดเป็น 96.2% ในจำนวนนี้ เอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ คิดเป็น 50.8% (66/130) เมื่อนำเอมบริโอจำนวนทั้งหมดที่มีรูปร่างปกตินี้ไปทำการเพาะเลี้ยง 24,48 และ 72 ชั่วโมง สามารถเจริญเติบโต 68.2% (45/66) 66.7% (44/66) 60.6% (40/66) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเอมบริโอกลุ่มควบคุมที่ไม่ผ่านการแช่แข็งจำนวน 122 ตัว สามารถเจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยงในระยะเดียวกัน 86.9% (106/122) 85.3% (104/122) และ 82.8% (101/122) ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.1 แสดงการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสของเอมบริโอหนูเมาซ์ระยะ 2-เซลล์ ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง

กลุ่ม	จำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง (ตัว)	จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการทำละลาย (ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ (ตัว)[a] [%]	จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยง (ตัว)[b] [%] 24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
แช่แข็ง	130	125 [96.2]	66 [50.8]	45 [68.2]*	44 [66.7]*	40 [60.6]*
ควบคุม	-	-	122	106 [86.9]	104 [85.3]	101 [82.8]

a : จำนวนเอมบริโอทั้งหมด ที่มีลักษณะรูปร่างปกติ นำไปเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF

: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง

b : จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เป็นระยะ 4-8 เซลล์ , ระยะมอรูล่าและระยะบลาสโตซิส ตามลำดับ

: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่เพาะเลี้ยง

* : แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 เอมบริโอระยะ 4- เซลล์

เอมบริโอระยะ 4-เซลล์ จำนวน 111 ตัว ภายหลังจากการทำการแช่แข็งแล้ว พบว่า จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการทำละลาย 109 ตัว คิดเป็น 89.2 % (ดังตารางที่ 3.2) จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ คิดเป็น 55.9% (62/111) เมื่อนำเอมบริโอมาทำการเพาะเลี้ยง จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโต ภายหลังการเพาะเลี้ยง 24 และ 48 ชั่วโมง 72.6% (45/62) และ 69.4% (43/62) ตามลำดับ สำหรับกลุ่มควบคุมเอมบริโอ จำนวน 102 ตัว สามารถเจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยง 87.3% (89/102) และ 84.3% (86/102) ตามลำดับ

ตารางที่ 3.2 แสดงการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสของเอมบริโอหนูเมาซ์ระยะ 4- เซลล์ ภายหลังการแช่แข็ง ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง

กลุ่ม	จำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง (ตัว)	จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการทำละลาย (ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ[a] (ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยง (ตัว)[b] [%] 24 ชม.	48 ชม.
แช่แข็ง	111	109 [98.2]	62 [55.9]	45 [72.6]*	43 [69.4]*
ควบคุม	-	-	102	89 [87.3]	86 [84.3]

a : จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติทั้งหมด นำไปเพาะเลี้ยง ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF
: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง

b : จำนวนเอมบริโอที่เจริญภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เป็นระยะ 8-เซลล์ ระยะมอรูล่า และระยะบลาสโตซิส ตามลำดับ
: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยง

* : แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

1.3 เอมบริโอระยะ 8-เซลล์

ผลการทดลอง จากตารางที่ 3.3 พบว่า จำนวนเอมบริโอที่ทำการแช่แข็ง 105 ตัว ภายหลังการทำละลาย เก็บได้จำนวน 96.2% (101/105) ซึ่งในจำนวนนี้ ที่มีลักษณะรูปร่างปกติ 64.8%(68/105) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเอมบริโอ ในกลุ่มแช่แข็งและกลุ่มควบคุม ภายหลังการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง คิดเป็น 83.8 % (57/68) 92.5% (124/134) และภายหลังการเพาะเลี้ยง 48 ชั่วโมง คิดเป็น 80.8 % (55/68) และคิดเป็น 89.6 % (120/134) ตามลำดับ

ตารางที่ 3.3 แสดงการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง

กลุ่ม	จำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง (ตัว)	จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการทำละลาย (ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ(ตัว)[a] [%]	จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยง(ตัว)[b] [%]	
				24 ชม.	48 ชม.
แช่แข็ง	105	101 [96.2]	68 [64.8]	57 [83.8]	55 [80.8]
ควบคุม	-	-	134	124 [92.5]	120 [89.6]

a : จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติทั้งหมด นำไปเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF
: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง

b : จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตภายหลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 24 ชั่งโมง และ 48 ชั่วโมง เป็นระยะมอรูล่า และระยะบลาสโตซิส ตามลำดับ
: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

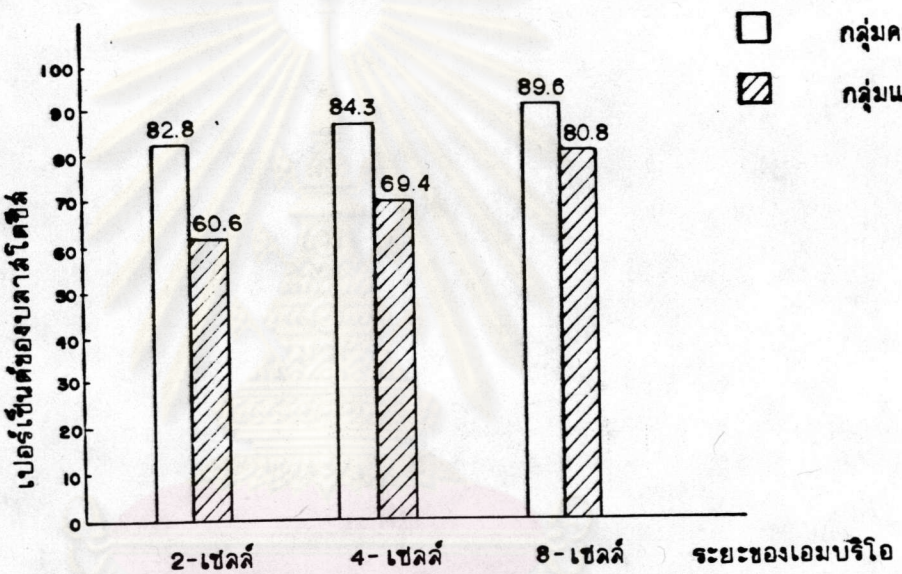
จากผลการทดลองเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซิสที่เจริญจากเอมบริโอกลุ่มควบคุมและกลุ่มแช่แข็ง ระยะ 2-, 4- และ 8-เซลล์ดังรูปที่ 3.1 โดยที่เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยงทั้งหมด และผลการเปรียบเทียบทางสถิติ ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แสดงการเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอกลุ่มแช่แข็งและกลุ่มควบคุม ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต

ระยะของเอมบริโอ : กลุ่มที่เปรียบเทียบ	ค่าสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
2-เซลล์ : กลุ่มแช่แข็งกับกลุ่มควบคุม	-3.188	< 0.05
4-เซลล์ : กลุ่มแช่แข็งกับกลุ่มควบคุม	-2.172	< 0.05
8-เซลล์ : กลุ่มแช่แข็งกับกลุ่มควบคุม	-1.660	N.S

N.S : Not significantly difference.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซิส์ที่เจริญจากเอมบริโอกลุ่มควบคุม และกลุ่มแช่แข็ง ระยะ 2-,4- และ 8-เซลล์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ผลการเปรียบเทียบการแช่แข็งและการเจริญเติบโต ถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอระยะ 2-, 4- และ 8-เซลล์

จากตารางที่ 3.5 พบว่า เอมบริโอระยะ 2-, 4- และ 8-เซลล์ เมื่อนำมาแช่แข็ง จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ ภายหลังการทำละลาย 96.2 % (125/130) 98.2% (109/111) และ 96.2 % (101/105) ในจำนวนนี้มีลักษณะรูปร่างปกติ 50.8 % (66/130) 55.9% (62/111) และ 64.8 % (68/105) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง สามารถเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส 60.6% (40/66) 69.4% (43/62) และ 80.8 % (55/68) ตามลำดับ

ตารางที่ 3.5 แสดงการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสของเอมบริโอระยะ 2-, 4- และ 8-เซลล์ ภายหลังการแช่แข็ง เป็นเวลานาน 48-72 ชั่วโมง ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF

ระยะของเอมบริโอ	จำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง (ตัว)	จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการทำละลาย(ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ (ตัว)[a] [%]	จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสภายหลังเพาะเลี้ยง(ตัว)[b] [%]
2-เซลล์	130	125 [96.2]	66 [50.8]	40 [60.6]
4-เซลล์	111	109 [98.2]	62 [55.9]	43 [69.4]
8-เซลล์	105	101 [96.2]	68 [64.8]*	55 [80.8]*

* : แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับเอมบริโอระยะ 2-เซลล์ และ 4-เซลล์

a : นำเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติทั้งหมดภายหลังการแช่แข็ง มาทำการเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF นับจำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส

: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง

b : เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่มีนำมาเพาะเลี้ยง

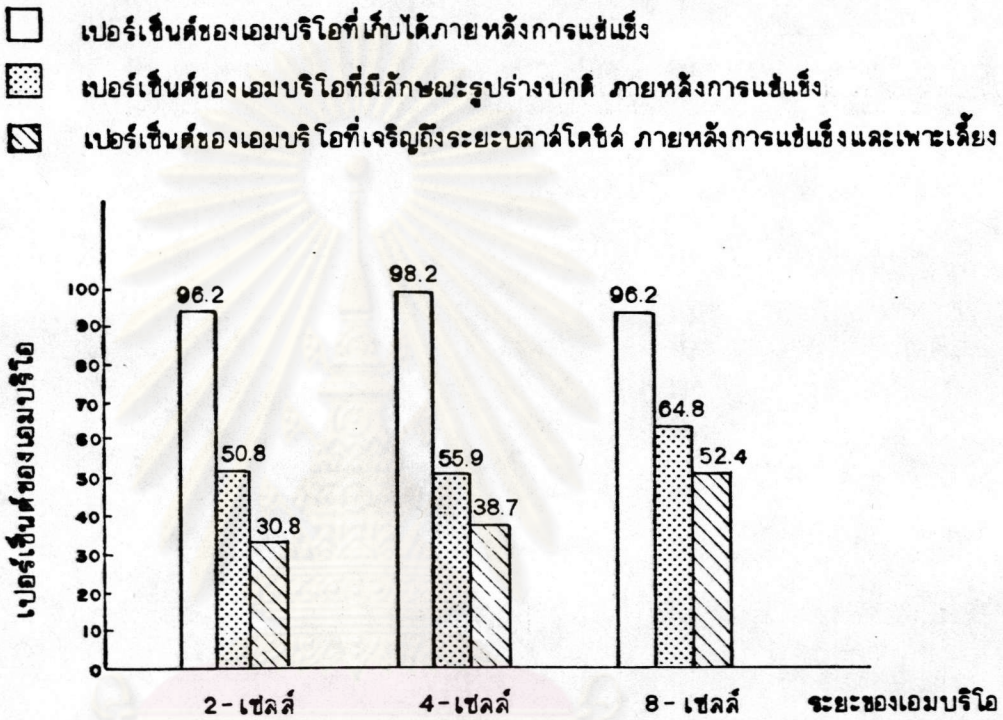
จากผลการทดลองเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการแช่แข็ง ที่มีลักษณะรูปร่างปกติภายหลังการแช่แข็งและที่เจริญถึงระยะบลาสโตซิส ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยง ของเอมบริโอระยะ 2-, 4- และ 8- เซลล์ ดังรูปที่ 3.2 โดยที่เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็งทั้งหมด และผลการเปรียบเทียบทางสถิติดังตารางที่ 3.6 และ 3.7

ตารางที่ 3.6 แสดงการเปรียบเทียบผลของเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ ภายหลังการแช่แข็ง ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของเอมบริโอ

ระยะของเอมบริโอ	ค่าสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
2-เซลล์ กับ 4-เซลล์	-0.777	N.S
4-เซลล์ กับ 8-เซลล์	-1.359	N.S
2-เซลล์ กับ 8-เซลล์	-2.189	< 0.05

ตารางที่ 3.7 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเจริญเติบโต ถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอแต่ละระยะ ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF

ระยะของเอมบริโอ	ค่าทางสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
2-เซลล์ กับ 4-เซลล์	-1.101	N.S
4-เซลล์ กับ 8-เซลล์	-2.060	< 0.05
2-เซลล์ กับ 8-เซลล์	-3.281	< 0.05



รูปที่ 3.2 แสดงเปอร์เซ็นต์ของเอมบริโอที่เก็บได้ ที่มีลักษณะรูปร่างปกติ และสามารถเจริญถึงระยะบลาส์โตซิส์ ภายหลังการแช่แข็งของเอมบริโอที่นำมาแช่แข็ง ในระยะ 2-, 4- และ 8-เซลล์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. <u>ผลการเปรียบเทียบการแช่แข็งและการเจริญเติบโต ถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ ที่แช่แข็งโดยใช้สารป้องกันอันตรายจากการแช่แข็งชนิดต่าง ๆ</u>

เอมบริโอภายหลังการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงใน Propanediol,Dimethyl sulfoxide และ Glycerol เป็นสารป้องกันอันตรายจาการแช่แข็ง เก็บได้หลังการทำละลาย 94.4% (34/36) 92.1% (35/38) และ 94.2 % (33/35) ดังแสดงในตารางที่ 3.8 ในจำนวนนี้ มีลักษณะรูปร่างปกติ 72.2 % (26/36) 50.0 % (19/38)และ45.7% (16/35) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยง สามารถเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส 84.6 % (22/26) 63.2 % (12/19) และ 62.5 % (10/16) ตามลำดับ

ตารางที่ 3.8 แสดงการเจริญเติบโตของเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ภายหลังการแช่แข็ง ด้วย cryoprotectant ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของ cryoprotectant	จำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง (ตัว)	จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการแช่แข็ง (ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่มีรูปร่างปกติ (ตัว)[a] [%]	จำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส (ตัว)[b] [%]
PROH	36	34 [94.4]	26 [72.2]*	22 [84.6]*
DMSO	38	35 [92.1]	19 [50.0]	12 [63.2]
Glycerol	35	33 [94.2]	16 [45.7]	10 [62.5]

PROH : Propanediol ; DMSO : Dimethyl sulfoxide

a : นำเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติทั้งหมดภายหลังการแช่แข็ง มาทำการเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเอมบริโอที่เจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิส

: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง

b : เปอร์เซ็นต์เทียบจาก a

* : แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ DMSO และ Glycerol

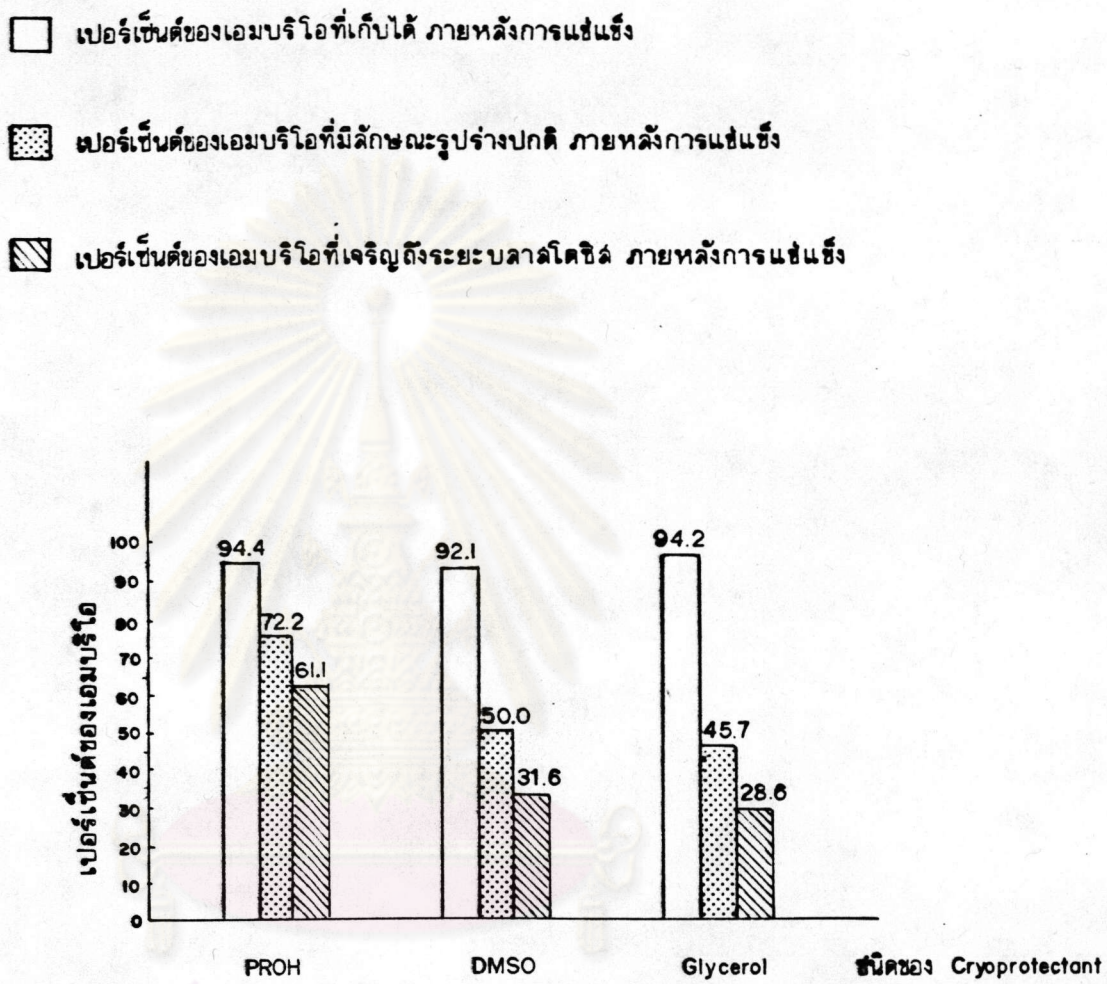
จากการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการแช่แข็ง ที่มีลักษณะรูปร่างปกติภายหลังการแช่แข็ง และที่เจริญถึงระยะบลาสโตซิส ภายหลังการแช่แข็งของเอมบริโอระยะ 8- เซลล์ที่แช่แข็งด้วย PROH, DMSO และ Glycerol ดังรูปที่ 3.3 โดยที่เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็งทั้งหมด และผลการเปรียบเทียบทางสถิติดังตารางที่ 3.9 และ 3.10

ตารางที่ 3.9 แสดงการเปรียบเทียบผลของเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ ภายหลังการแช่แข็ง ด้วย cryoprotectant ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของ cryoprotectant	ค่าทางสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
PROH กับ DMSO	1.994	< 0.05
DMSO กับ Glycerol	0.342	N.S
PROH กับ Glycerol	2.307	< 0.05

ตารางที่ 3.10 แสดงการเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสของเอมบริโอที่แช่แข็งด้วย cryoprotectant ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของ cryoprotectant	ค่าทางสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
PROH กับ DMSO	2.237	< 0.05
DMSO กับ Glycerol	0	N.S
PROH กับ Glycerol	2.178	< 0.05



รูปที่ 3.3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของเอมบริโอที่เก็บได้ ภายหลังการแช่แข็ง ที่มีลักษณะรูปร่างปกติ และที่สามารถเจริญถึงระยะบลาสโตซิส์ ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยงจากเอมบริโอระยะ 8 - เซลล์ ที่แช่แข็งด้วย PROH, DMSO และ Glycerol

4. ผลการเปรียบเทียบการแช่แข็งและการเจริญเติบโต ถึงระยะบลาสโตซิส ของเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ ที่เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

จากตารางที่ 3.11 พบว่า เอมบริโอที่แช่แข็งและเก็บในไนโตรเจนเหลว ในช่วงเวลา 1, 28 และ 56 วัน ภายหลังการทำละลาย สามารถเก็บได้ 96.7% (117/121) 94.5 % (103/109) และ 99.0 %(100/101) แต่มีลักษณะรูปร่างปกติ 67.8 % (82/121) 65.1% (71/109) และ 62.4% (63/101) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยง สามารถเจริญเติบโต ถึงระยะบลาสโตซิส 85.4 % (70/82) 78.9 % (56/71) และ 82.5 % (52/63) ตามลำดับ

ตารางที่ 3.11 แสดงการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสของเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ภายหลังการแช่แข็งและเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน โดยเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF เป็นเวลานาน 48 ชั่งโมง

ช่วงเวลาที่เก็บเอมบริโอในไนโตรเจนเหลว (วัน)	จำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง (ตัว)	จำนวนเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการทำละลาย (ตัว) [%]	จำนวนเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ (ตัว) [a] [%]	จำนวนเอมบริโอที่เจริญถึงระยะบลาสโตซิสภายหลังการเพาะเลี้ยง (ตัว) [b] [%]
1	121	117 [96.7]	82 [67.8]	70 [85.4]
28	109	103 [94.5]	71 [65.1]	56 [78.9]
56	101	100 [99.0]	63 [62.4]	52 [82.5]

a : นำเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติทั้งหมด นำมาเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเอมบริโอที่เจริญถึงระยะบลาสโตซิส

: เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็ง

b : เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

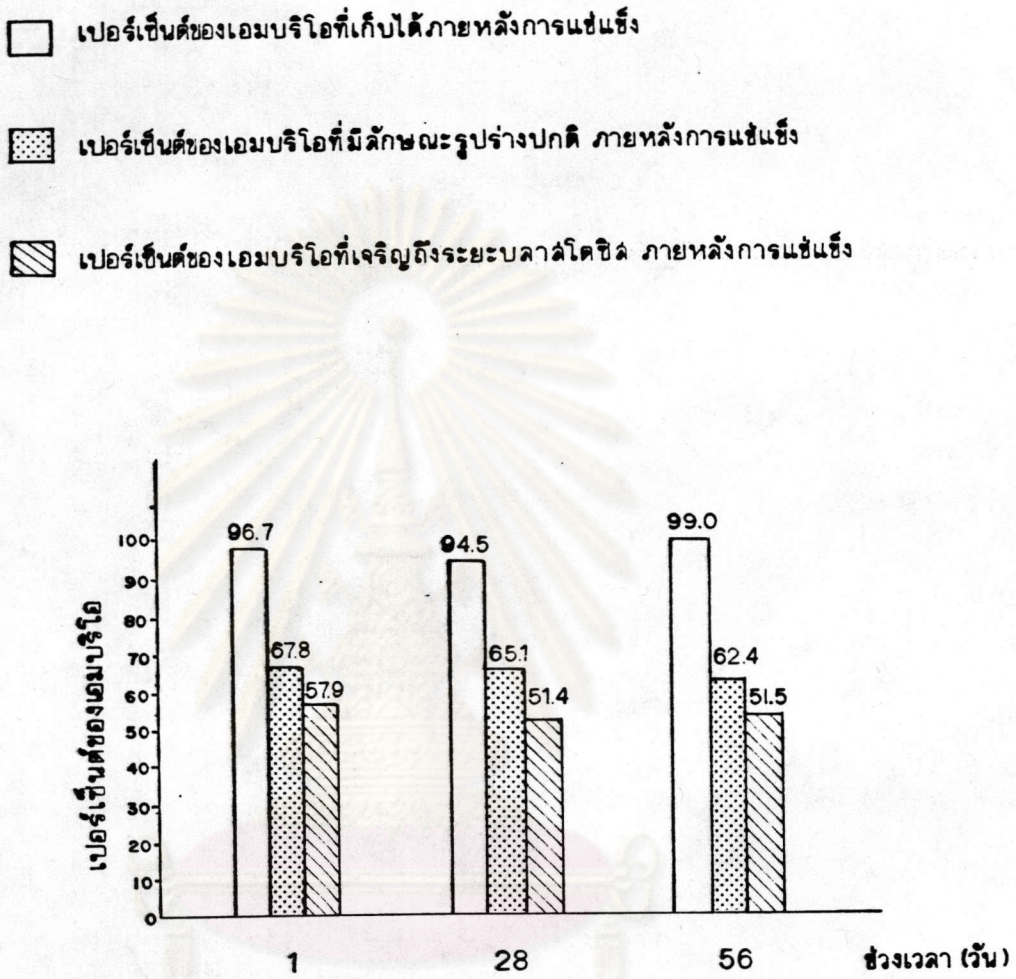
จากผลการทดลองเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของเอมบริโอที่เก็บได้ภายหลังการแช่แข็ง ที่มีลักษณะรูปร่างปกติภายหลังการแช่แข็ง และที่เจริญถึงระยะบลาสโตซิสภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยงของเอมบริโอระยะ 8- เซลล์ที่แช่แข็งในไนโตรเจนเหลวในช่วงเวลา 1,28 และ 56 วัน ดังรูปที่ 3.4 โดยที่เปอร์เซ็นต์เทียบจากจำนวนเอมบริโอที่แช่แข็งทั้งหมด และผลการเปรียบเทียบทางสถิติ ดังตารางที่ 3.12 และ 3.13

ตารางที่ 3.12 แสดงการเปรียบเทียบผลของเอมบริโอที่มีลักษณะรูปร่างปกติ ภายหลังการแช่แข็ง โดยการเก็บในไนโตรเจนเหลวในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

ช่วงเวลาที่เก็บในไนโตรเจนเหลว	ค่าสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
1 วัน กับ 28 วัน	0.481	N.S
28 วัน กับ 56 วัน	-0.451	N.S
1 วัน กับ 56 วัน	0.934	N.S

ตารางที่ 3.13 แสดงการเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซิสของเอมบริโอที่เก็บในไนโตรเจนเหลวในช่วงเวลาต่างกัน

ช่วงเวลาที่เก็บในไนโตรเจนเหลว	ค่าทางสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
1 วัน กับ 28 วัน	1.182	N.S
28 วัน กับ 56 วัน	-0.954	N.S
1 วัน กับ 56 วัน	0.557	N.S



รูปที่ 3.4 แสดงเปอร์เซ็นต์ของเอมบริโอที่เก็บได้ ภายหลังการแช่แข็งที่มีลักษณะรูปร่างปกติ และที่เจริญถึงระยะบลาส์โตซิส์ ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยงของเอมบริโอระยะ 8 – เซลล์ ที่นำมาแช่แข็งและเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวในช่วงเวลา 1, 28 และ 56 วัน

5. ผลการเปรียบเทียบการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซิส ที่ผ่านการแช่แข็งและไม่ผ่านการแช่แข็ง ไปยังมดลูกของหนูตัวรับ (recipient) ที่ตั้งท้องเทียมได้ 3 วัน

จากการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซิส 72 ตัว ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ (กลุ่มที่ 3) ดังตารางที่ 3.14 และ3.16 เอมบริโอสามารถฝังตัวได้ 54.2% (39/72) ส่วนเอมบริโอระยะบลาสโตซิสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ ภายหลังการแช่แข็ง (กลุ่มที่ 1) กับเอมบริโอระยะบลาสโตซิสที่ได้จากการเจริญเติบโตภายในร่างกาย (กลุ่มที่ 2) ดังตารางที่ 3.15 และ 3.16 ถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซีสจำนวนกลุ่มละ 84 ตัว ไปยังมดลูกของหนูตัวรับโดยสลับข้างกันในหนู 14 ตัว ผลการทดลองพบว่า เอมบริโอกลุ่มที่ 1 สามารถฝังตัวได้ 30.9% (26/84) และกลุ่มที่ 2 สามารถฝังตัวได้ 51.2% (43/84)

ตารางที่ 3.14 แสดงผลการถ่ายฝากเอมบริโอ ระยะบลาสโตซิสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ ระยะ 8-เซลล์ แล้วนำไปถ่ายฝากยังหนูตัวรับที่ตั้งท้องเทียมได้ 3 วัน

หมายเลข	จำนวนบลาสโตซิสที่ถ่ายฝาก (ตัว)	จำนวนบลาสโตซิสที่ฝังตัว (ตัว)
1	12	12
2	12	7
3	12	4
4	12	4
5	12	6
6	12	6
รวม	72	39 (54.2%)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.15 แสดงผลการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซิสในกลุ่มที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ภายหลังการแช่แข็ง และกลุ่มที่ได้จากการเจริญเติบโตภายในร่างกาย ไปยังมดลูกของหนูตัวรับที่ตั้งท้องเทียมได้ 3 วัน

หมายเลขหนูตัวรับ	จำนวนบลาสโตซิสที่ถ่ายฝาก (ตัว) [ข้างละ 6 ตัว]	ตำแหน่งของมดลูก ข้างซ้าย	ข้างขวา	จำนวนเอมบริโอที่ฝังตัว ข้างซ้าย	ข้างขวา
1	12	C	F	4	3
2	12	F	C	2	3
3	12	F	C	0	5
4	12	C	F	0	0
5	12	F	C	0	0
6	12	C	F	3	2
7	12	C	F	2	3
8	12	F	C	3	3
9	12	C	F	0	0
10	12	F	C	4	5
11	12	C	F	4	3
12	12	F	C	3	4
13	12	C	F	4	3
14	12	F	C	5	6
รวม	84	C = 43 ตัว		F = 26 ตัว	

C : Control embryos

F : Frozen- thawed- cultured embryos

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.16 แสดงการเปรียบเทียบผลการฝังตัวของเอมบริโอระยะบลาสโตซิส ที่ถ่ายฝากไปยังหนูตัวรับที่ตั้งท้องเทียมได้ 3 วัน

กลุ่มที่	จำนวนบลาสโตซิสที่ถ่ายฝาก (ตัว)	จำนวนบลาสโตซิสที่ฝังตัว (ตัว) [%]
1	84	26 [30.9]*
2	84	43 [51.2]
3	72	39 [54.2]

กลุ่มที่ 1 : เอมบริโอระยะบลาสโตซิส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8- เซลล์ ภายหลังการแช่แข็ง

กลุ่มที่ 2 : เอมบริโอระยะบลาสโตซิส ที่ได้จากการเจริญเติบโตภายในร่างกาย

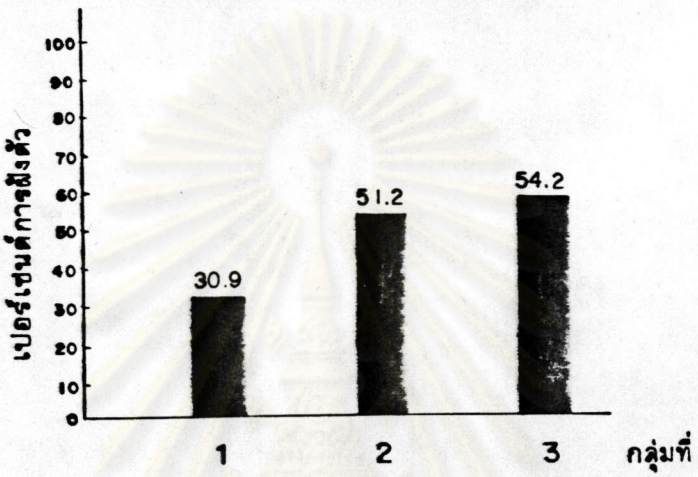
กลุ่มที่ 3 : เอมบริโอระยะบลาสโตซิส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8-เซลล์

* : แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 และ 3

จากรูปที่ 3.5 เป็นการเปรียบเทียบผลการทดลองของเปอร์เซ็นต์การฝังตัวของบลาสโตซิสที่ได้ จากเอมบริโอระยะ 8- เซลล์ ภายหลังการแช่แข็งและเพาะเลี้ยง (กลุ่มที่ 1) ที่ได้จากการเจริญภายในร่างกาย (กลุ่มที่ 2) และที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8- เซลล์ (กลุ่มที่ 3) และผลการเปรียบเทียบทางสถิติในแต่ละกลุ่ม ดังตารางที่ 3.17

ตารางที่ 3.17 แสดงการเปรียบเทียบผลการฝังตัวภายหลังการถ่ายฝากเอมบริโอในแต่ละกลุ่ม

กลุ่มที่	ค่าทางสถิติ (Z)	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ (p)
1 กับ 2	-2.690	< 0.05
2 กับ 3	0.649	N.S
1 กับ 3	-2.695	< 0.05



รูปที่ 3.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การฝังตัวของบลาสโตซิสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ ภายหลังการแช่แข็ง (กลุ่มที่ 1) ที่เจริญเติบโตภายในร่างกาย (กลุ่มที่ 2) และที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ (กลุ่มที่ 3)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย