บทที่ 4
วิจารณ์และสรุปผล

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคการปฏิสนธิภายนอกร่างกายมาใช้ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อสุกร โดยเปรียบเทียบความสำเร็จในการปฏิสนธินอกร่างกายระหว่างน้ำเชื้อสดหลังเจือจางซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส กับน้ำเชื้อแช่แข็ง (- 196 องศาเซลเซียส) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้น้ำเชื้อสดสุกรเก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 2 , 4 , 6 วันมีผลต่อจำนวนโอโอไซต์ที่มีการปฏิสนธิ โดยน้ำเชื้อจากพ่อสุกรทั้ง 2 ตัว (สุกรเอและสุกรบี) สุกรเอให้จำนวนโอโอไซต์ที่มีการปฏิสนธิจากการตรวจพบหัว , หางอสุจิ และตรวจพบ 2 pronuclei ในโอโอพลาสซึมลดลงจาก 10 / 24 (42 %) เป็น 7 / 24 (29 %) , 2 / 24 (8 %) และ 2 / 24 (8 %) ตามลำดับเช่นเดียวกับเมื่อใช้น้ำเชื้อจากสุกรบีที่ให้จำนวนโอโอไซต์ที่มีการปฏิสนธิจากการตรวจพบหัว , หางอสุจิและตรวจพบ 2 pronuclei ในโอโอพลาสซึมลดลงจาก 10 / 24 (42 %) เป็น 6 / 24 (25 %) , 4 / 24 (17 %) และ 3 / 24 (13 %) ตามลำดับหลังเก็บน้ำเชื้อไว้นานเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลา 2 , 4 และ 6 วัน (ตารางที่3. 3) ในส่วนของอัตราการการแบ่งตัวของตัวอ่อนพบว่า จำนวนตัวอ่อนที่มีการแบ่งตัวและการพัฒนาหลังปฏิสนธิเมื่อใช้น้ำเชื้อจากสุกรเอมีอัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนลดลงจาก 50 % (120 / 240) เป็น 39 % (94 / 240),21 % (51 / 240 และ12 % (29 / 240) ตามลำดับ เช่นเดียวกับเมื่อใช้น้ำเชื้อจากสุกรบีที่ให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิลดลงจาก 59 % (142 / 240) เป็น 42 % (102 / 240 , 26 % (62 / 240) และ 17 % (41 / 240) ตามลำดับ หลังเก็บน้ำเชื้อไว้นานเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลา 2 , 4 และ 6 วัน (ตารางที่ 3. 4) แสดงว่าการเก็บน้ำเชื้อไว้เป็นเวลานานอาจมีผลทำให้แหล่งอาหารของตัวอสุจิลดลง ลดขบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis)ซึ่งทำให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิลดลงนอกจากนี้ยังทำให้จำนวนตัวตายของตัวอสุจิเพิ่มขึ้น และทำให้มีตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดสำหรับนำมาใช้ทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายกับโอโอไซต์น้อย สังเกตจากอัตรารอดหลังทำการ swim up ส่งผลให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายลดลงตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ ซึ่งตรงกันข้ามกับงานวิจัยของ

Pursel และคณะ (1973 a) ที่พบว่าความสามารถในการผสมติดในแม่สุกรโดยใช้น้ำเชื้อพ่อสุกรซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสและใช้ Beltsville L1 (BL 1) เป็นสารเจือจางน้ำเชื้อแล้วเก็บน้ำเชื้อไว้ 1 , 3 , 5 วันจะสูงเมื่อเก็บน้ำเชื้อไว้นานขึ้น (วันที่ 1 : 87.2 % , วันที่ 3 : 91.4 % , วันที่ 5 : 92.6 %) ซึ่งการที่อัตราการปฏิสนธิหลังจากเก็บน้ำเชื้อถึงวันที่ 5 สูงกว่าวันที่ 1 , 3 เนื่องจากผลของวันที่ 1 , 3 มีตัวอสุจิหลายตัวที่สามารถเจาะทะลุผ่านโอโอไซต์เข้าไปได้ (polyspermy) แสดงว่าระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อและความเข้มข้นของตัวอสุจิหลังทำการ swim up ก่อนทำการผสมเทียมมีผลต่ออัตราการผสมติดหลังปฏิสนธิด้วย ต่อมาในปีเดียวกัน Pursel และ คณะ (1973 b) พบว่าระหว่างการเก็บน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสประมาณ 48 ชม.น้ำเลี้ยงตัวอสุจิ (seminal plasma) จะทำให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิลดลง และทำให้เกิดความเสียหายต่ออะโครโซมของตัวอสุจิประมาณ 80 % แต่ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะทำให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิลดลง และทำให้เกิดความเสียหายต่ออะโครโซมของตัวอสุจิประมาณ 20 % แสดงว่าระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อมีส่วนเกี่ยวข้องกับคุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหว และรูปร่างลักษณะของตัวอสุจิด้วย จากผลการศึกษาในครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิขึ้นกับคุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหว และอัตรารอดของตัวอสุจิหลังทำการ swim up ของพ่อสุกรแต่ละตัว เนื่องจากถ้าเก็บน้ำเชื้อไว้เป็นระยะเวลานานจะลดอัตราการเคลื่อนไหวและความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดซึ่งมีผลไปลดอัตราความสำเร็จในการทำไอ วี เอฟ อย่างไรก็ตามผลการตรวจสอบน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหวจากกล้องจุลทรรศน์อาจไม่สัมพันธ์กับอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายก็ได้ โดยพบว่าอัตราความสำเร็จในการทำไอ วี เอฟ เมื่อใช้น้ำเชื้อจากพ่อสุกรบีซึ่งมีคุณภาพน้ำเชื้อด้อยกว่าพ่อสุกรเอมีค่าสูงกว่าเมื่อใช้น้ำเชื้อจากพ่อสุกรเอ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรก่อนนำมาทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายไม่สามารถยืนยันความสามารถในการปฏิสนธิได้ เพราะจากการวิจัยครั้งนี้พบว่าน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีกลับให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายต่ำกว่าน้ำเชื้อที่มีคุณภาพด้อยกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพด้านการเคลื่อนไหวดี และมีความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up สูงอาจให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายต่ำ

กว่าน้ำเชื้อที่มีคุณภาพด้านการเคลื่อนไหวไม่ดีและมีความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up ค่อนข้างน้อยได้ ดังนั้นการตรวจสอบอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายจึงน่าจะเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำเชื้อจากพ่อสุกรที่นำมาใช้มีคุณภาพดีหรือไม่ อย่างไร นั่นคือถ้าใช้น้ำเชื้อจากพ่อสุกร ก แล้วให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายสูง เราก็จะถือว่าพ่อสุกร ก ให้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพในด้านการเคลื่อนไหวสำหรับการปฏิสนธิดี อย่างไรก็ตามควรควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการปฏิสนธิภายนอกร่ายกายอื่น ๆ เช่น ชนิดของโอโอไซต์, ระยะเวลาที่ทำให้เกิดความพร้อมที่จะปฏิสนธิของโอโอไซต์ , ชนิดของน้ำยาที่ใช้เพาะเลี้ยงตัวอ่อนและระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนให้คงที่เป็นต้น ซึ่งปัจจัยดังกล่าวเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงด้วย

ในส่วนของผลการทำไอ วี เอฟด้วยน้ำเชื้อที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสพบว่าระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อไม่มีผลต่ออัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกาย คือเมื่อนำน้ำเชื้อจากพ่อสุกรบีซึ่งให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายสูงกว่าพ่อสุกรเอมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 0 , 2 , 4 , 6 วัน จะให้อัตราความสำเร็จในกาปฏิสนธิภายนอกร่างกายในด้านอัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิใกล้เคียงกัน คือ 22 % (43 / 200) , 20 % (38 / 190) , 24 % (46 / 190) และ 30 % (52 / 200) ตามลำดับ (ตารางที่ 3.6) ซึ่งอธิบายได้ว่า เมื่อเก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลานานขึ้นคือ 2 , 4 , 6 วัน ตัวอสุจิมีการปรับสภาพเข้ากับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสได้จึงไม่ต้องเผาผลาญอาหารเพื่อนำพลังงานไปใช้ในการเคลื่อนไหวมากทำให้ไม่เกิดการคั่งของกรดแลคติค ซึ่งถ้ามีกรดตัวนี้มากก็จะเป็นอันตรายต่อตัวอสุจิ นอกจากนี้ในสารเจือจางน้ำเชื้อ (BTS) ได้ใส่สารป้องกันการแช่แข็งพวกกลีเซอรอลและไข่แดงลงไปด้วย ทำให้มีจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดอยู่มากเมื่อนำไปทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายกับโอโอไซต์ที่เตรียมไว้ จึงไม่ทำให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิลดลงมากตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อที่นานขึ้น คือ 2 , 4 และ 6 วัน ให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนมีค่าเท่ากับ 20 % , 24 % และ 26 % ตามลำดับ ซึ่งการที่อัตราการแบ่งตัวของตัวอ่อนในวันที่ 6 เพิ่มขึ้นมากกว่าวันที่ 2 และวันที่ 4 ก็อาจจะเนื่องจากว่าในวันที่ 6 ตัวอสุจิมีการปรับสภาพหรือปรับตัวเข้ากับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ได้ดีจึงมีอัตรารอดสูง ส่งผลให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิภายนอกร่างกายสูงตามไปด้วยแต่ผลนี้ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และถึง

แม้ว่าการตรวจพบหัว , หางอสุจิและตรวจพบ 2 pronuclei ในโอโอพลาสซึมจากจำนวนโอโอไซต์ที่มีการปฏิสนธิจะลดลงจาก 10 / 24 (42 %) เป็น 6 / 24 (25 %) , 4 / 24 (17 %) และ 3 / 24 (13 %) ตามลำดับ หลังเก็บน้ำเชื้อไว้นานเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลา 2 , 4 และ 6 วัน แต่ผลนี้ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

หากเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของการเก็บน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ถ้าต้องการเก็บน้ำเชื้อสุกรสดหลังเจือจางไว้เป็นระยะเวลานานเกิน 2 วัน ควรเก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยต้องใส่สารที่ช่วยป้องกันสภาวะช็อคจากความเย็นหรือสารป้องกันการแช่แข็งลงไปด้วย แต่ถ้าต้องการเก็บน้ำเชื้อสดของสุกรไว้ไม่เกิน 2 วันก็สามารถเก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสได้โดยไม่มีผลต่ออัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายในด้านอัตราการแบ่งตัว และการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิ ส่วนผลในด้านการตรวจพบหัวอสุจิ, หางอสุจิและการตรวจพบ 2 pronuclei ในโอโอพลาสซึมหลังการปฏิสนธิภายนอกร่างกายเมื่อใช้น้ำเชื้อสดหลังเจือจางทั้งที่เก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสและ 5 องศาเซลเซียส ต้องใช้เวลาในการรอดูผลของอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายนานถึง 20 วันจึงไม่นิยมนำมาใช้เป็นข้อบ่งชี้หรือ นำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการทดสอบคุณภาพน้ำเชื้อโดยเฉพาะในด้านการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ

ส่วนผลการวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 196 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 , 2 , 4 , 6 วันหลังทำการละลายน้ำเชื้อแล้วนำมาทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายกับโอโอไซต์จากสุกรสาวจะให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายในด้านการตรวจพบหัวอสุจิ, หางอสุจิและตรวจพบ 2 pronuclei ในโอโอพลาสซึมจากจำนวนโอโอไซต์ที่มีการปฏิสนธิใกล้เคียงกัน คือ 4 / 20 (20 %) , 2 / 20 (10 %) , 3 / 20 (15 %) และ 1 / 20 (5 %) ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลในด้านการตรวจพบจำนวนตัวอ่อนที่มีการแบ่งตัวและการพัฒนาหลังปฏิสนธิซึ่งจะให้ผลใกล้เคียงกันคือ 43 / 210 (20 %) , 40 / 190 (21 %) , 46 / 190 (24 %) และ 48 / 200 (24 %) ตามลำดับ (ตารางที่ 3.8) ส่วนคุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหวและความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up ก็ใกล้เคียงกันด้วย (ตารางที่ 3.7) โดยผลดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหว หรืออัตรารอดของตัวอสุจิหลังทำการ

swim up และไม่มีผลต่ออัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกาย ทั้งนี้อธิบายได้ว่าระหว่างแช่แข็งน้ำเชื้อตัวอสุจิไม่ได้ ใช้พลังงานในการเคลื่อนไหวเลย เพราะฉะนั้นไม่ว่าจะเก็บน้ำเชื้อไว้นานแค่ไหนคุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหวที่ได้ก็จะใกล้เคียงกัน ซึ่งส่งผลให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายใกล้เคียงกันด้วย

ส่วนผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อสดในด้านการเคลื่อนไหว และความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up ซึ่งเก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสกับน้ำเชื้อแช่แข็ง และเปรียบเทียบอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายเมื่อใช้น้ำเชื้อสดกับเมื่อใช้น้ำเชื้อแช่แข็งพบว่า น้ำเชื้อแช่แข็งจะให้คุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหวหรือให้อัตรารอดของตัวอสุจิหลังทำการ swim up และให้อัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายต่ำกว่าน้ำเชื้อสด (รูปที่ 3.5 และรูปที่ 3.6) ซึ่งอธิบายได้ว่าเนื่องจากตัวอสุจิมีความไวต่ออุณหภูมิมาก อาจจะเกิดภาวะช็อคจากความเย็น (cold shock) ขณะทำการแช่แข็งน้ำเชื้อได้ เช่นใส่สารป้องกันการแช่แข็งที่มีความเข้มข้นมากเกินไป หรือลดอุณหภูมิก่อนทำการแช่แข็งน้ำเชื้อเร็วเกินไปและอาจจะเกิดภาวะ warm shock ในช่วงทำการละลายน้ำเชื้อ (thawing semen) เพื่อนำมาใช้ในการทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายก็ได้ ปัจจัยดังกล่าวมีส่วนส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อในด้านการเคลื่อนไหว หรืออัตรารอดของตัวอสุจิหลัง swim up และอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายเมื่อใช้น้ำเชื้อแช่แข็งต่ำกว่าเมื่อใช้น้ำเชื้อสด เพราะทั้งภาวะช็อคจากความเย็น (cold shock) และ ภาวะ warm shock จะทำให้เกิดอันตรายและความเสียหายต่อเซลล์เมมเบรนรวมทั้งส่วนประกอบอื่น ๆ ภายในเซลล์ด้วย ดังรายงานการวิจัยของ Bamba และ Cran (1988) ที่พบว่าความเสียหายของอะโครโซมตัวอสุจิจะพบได้หลังจากเจือจางน้ำเชื้อและขณะทำการละลายน้ำเชื้อ (thawing semen) อย่างรวดเร็วประมาณ 15 วินาที ซึ่งความเสียหายดังกล่าวจะพบมากที่สุดที่เวลา 60 วินาที โดยช่วงอุณหภูมิที่ทำให้เกิดความเสียหายต่ออะโครโซมของตัวอสุจิมากที่สุดขณะทำการละลายน้ำเชื้อคือจากอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ถึงอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและพบว่าสารที่ช่วยป้องกันการแช่แข็งพวกกลีเซอรอล ไดเมทิลซัลพอกไซด์ และพรอพิลีนไกลคอลมีประสิทธิภาพน้อยในการป้องกันภาวะ warm shock หลังทำกาละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง

นอกจากนี้ Bamba ยังพบอีกว่าการเจือจางน้ำเชื้ออย่างรวดเร็วและใช้สารป้องกันการแช่แข็ง เช่น กลีเซอรอลที่มีความเข้มข้นเท่ากับหรือมากกว่า 7.5 % ขึ้นไปจะทำให้เกิดความเสียหายต่ออะโครโซมของตัวอสุจิมากกว่าที่ความเข้มข้นน้อย ๆ คือเมื่อใช้กลีเซอรอลที่มีความเข้ม 1%, 5 % และ 7.5 % จะทำให้ลักษณะอะโครโซมของตัวอสุจิอยู่ในลักษณะปกติลดลงจาก 89.2 % เป็น 81.1 % และเป็น 52.6 % ตามลำดับแต่เมื่อนำน้ำเชื้อสดหลังเจือจางซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสมาเปรียบเทียบอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกายในด้านการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิกับเมื่อใช้น้ำเชื้อแช่แข็งโดยเก็บไว้เป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 วันพบว่าน้ำเชื้อสดซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสจะให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิใกล้เคียงกับเมื่อใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง คืออัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิ มีค่าเท่ากับ 22 %, 20 %, 24 % และ 26 % เทียบกับ 20 % , 21 %, 24 % และ 24 % ตามลำดับ (รูปที่ 3.6) โดยอัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิเมื่อใช้น้ำเชื้อสดซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสมีแนวโน้มสูงกว่าอัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัอ่อนหลังปฏิสนธิเมื่อใช้น้ำเชื้อแช่แข็งเล็กน้อยซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าระหว่างการเก็บน้ำเชื้อสดที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ได้ใส่สารที่ช่วยป้องกันภาวะช็อคจากความเย็นพวกกลีเซอรอล และไข่แดงลงไปด้วยเหมือนการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง จึงทำให้ตัวอสุจิทนต่อสภาวะช็อคจากความเย็นขณะเก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสได้ และน้ำเชื้อซึ่งเก็บไว้ที่ระดับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสนี้ ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการละลายน้ำเชื้อเหมือนน้ำเชื้อแช่แข็ง จึงทำให้ไม่ได้รับอิทธิพลจากภาวะ warm shock และการที่อัตราการแบ่งตัวของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิเมื่อใช้น้ำเชื้อแช่แข็งซึ่งเก็บไว้ 6 วันต่ำกว่าเมื่อใช้น้ำเชื้อสดซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แม้ว่าน้ำเชื้อแช่แข็งจะใส่สารป้องกันการแช่แข็งเช่นเดียวกับน้ำเชื้อสดซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แต่เนื่องจากก่อนนำน้ำเชื้อแช่แข็งมาทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายกับโอโอไซต์ที่เตรียมไว้จะต้องทำการ ละลายน้ำเชื้อเสียก่อน ดังนั้นในขั้นตอนนี้ตัวอสุจิอาจจะเกิดสภาวะ warm shock ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายและเป็นอันตรายต่ออะโครโซมของตัวอสุจิจึงส่งผลให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิลดลงไปด้วย แต่ผลดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่ามีความเป็นไปได้ในการนำเทคนิคการปฏิสนธิภายนอกร่างกายมาประเมินผลของระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อรวมทั้งประเมินคุณภาพน้ำเชื้อพ่อสุกรในด้านการเคลื่อนไหวและอัตรารอดของตัวอสุจิหลังทำการ swim up ในรูปน้ำเชื้อสดหลังเจือจาง และในรูปน้ำเชื้อแช่แข็งต่ออัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่างกาย ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้ช่วยให้เราสามารถเลือกช่วงระยะเวลาและช่วงอุณหภูมิการเก็บรักษาน้ำเชื้อสดให้เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการปฏิสนธิภายนอกร่างกาย หรือทำการผสมเทียมต่อไป และที่สำคัญคือช่วยให้เราตรวจสอบความสามารถในการผสมติดของพ่อสุกรได้รวดเร็วขึ้น โดยดูผลอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิในหลอดทดลองเป็นเกณฑ์ตัดสินคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งย่นระยะเวลาแทนที่จะนำน้ำเชื้อไปผสมกับแม่สุกรจริง คือถ้าพ่อสุกรตัวใดให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายสูง แสดงว่าพ่อสุกรตัวนั้นให้น้ำเชื้อที่มีสมรรถภาพทางการผสมติดดีสมควรคัดเลือกเก็บไว้เป็นพ่อพันธุ์ เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำเชื้อซึ่งได้ผ่านการตรวจสอบคุณภาพด้านการเคลื่อนไหวด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิดี และมีความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up สูงกลับให้ผลอัตราการแบ่งตัว และการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิต่ำกว่าน้ำเชื้อซึ่งตรวจพบว่า มีการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิน้อยและมีความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up ต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าถ้าความเข้มข้นของตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดหลังทำการ swim up มากเกินไป อาจเกิดมีตัวอสุจิหลายตัวเข้าผสมกับโอโอไซต์ (polyspermy) ซึ่งปัญหานี้พบได้บ่อยสำหรับการปฏิสนธิภายนอกร่างกายสุกรจึงทำให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิน้อย แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ได้ควบคุมระดับความเข้มข้นของตัวอสุจิก่อนทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายด้วยจึงอาจลดปัญหาการมีตัวอสุจิหลายตัวเข้าผสมกับโอโอไซต์ได้บ้าง เพราะฉะนั้นการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อโดยดูผลอัตราความสำเร็จในการปฏิสนธิภายนอกร่ายกายเป็นข้อบ่งชี้น่าจะให้ความเชื่อถือได้มากกว่า เนื่องจากเทคนิคการปฏิสนธิภายนอกร่างกายนี้สามารถใช้ตรวจสอบความสำเร็จในการปฏิสนธิได้รวดเร็วจึงช่วยลดระยะเวลา และค่าใช้จ่ายในการรีดเก็บน้ำเชื้อสำหรับนำมาใช้ในการผสมเทียมแต่ละครั้งด้วย นอกจากนี้ถึงแม้ว่าการใช้น้ำเชื้อแช่เย็นซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งจะให้อัตราความสำเร็จในการ

ปฏิสนธิภายนอกร่างกายในด้านอัตราการแบ่งตัว และการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิเพียง 20 - 25 % ในขณะที่เมื่อใช้น้ำเชื้อสดหลังเจือจางซึ่ง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส จะให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิถึง 50 % ซึ่งสูงกว่าการใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง โดยผลดังกล่าวจะให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิสูงก็ต่อเมื่อเก็บน้ำเชื้อไว้ประมาณ 4 วันซึ่งถ้าต้องการเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกรไว้เป็นเวลานานมากกว่า 4 วันการเก็บน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสจะให้อัตราการแบ่งตัว และการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิต่ำกว่า 20 % แสดงให้เห็นว่าถ้าต้องการเก็บน้ำเชื้อไว้เป็นเวลานานมากกว่า 4 วันควรเก็บน้ำเชื้อไว้ในรูปน้ำเชื้อแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส หรือเก็บในรูปน้ำเชื้อแช่แข็งซึ่งให้อัตราการแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อนหลังปฏิสนธิประมาณ 20 % - 25 % แต่การเก็บน้ำเชื้อสุกรในรูปน้ำเชื้อแช่แข็ง ยังให้อัตรารอดของตัวอสุจิภายหลังการละลายน้ำเชื้อค่อนข้างน้อย ดังนั้นการศึกษาครั้งต่อไปในอนาคตจึงควรมีการปรับปรุงพัฒนา ทคนิคและขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งให้มีประสิทธิภาพเหมาะสมมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นในด้านการเลือกชนิดของสารป้องกันการแช่ซึ่ง , การเลือกระดับความเข้มข้นของสารป้องกันการแช่แข็ง และการเลือกอัตราเร็วในการทำการแช่แข็ง หรือการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งก่อนนำมาทำการปฏิสนธิภายนอกร่างกายให้เหมาะสม