บทที่ 3

ผลการทดลอง

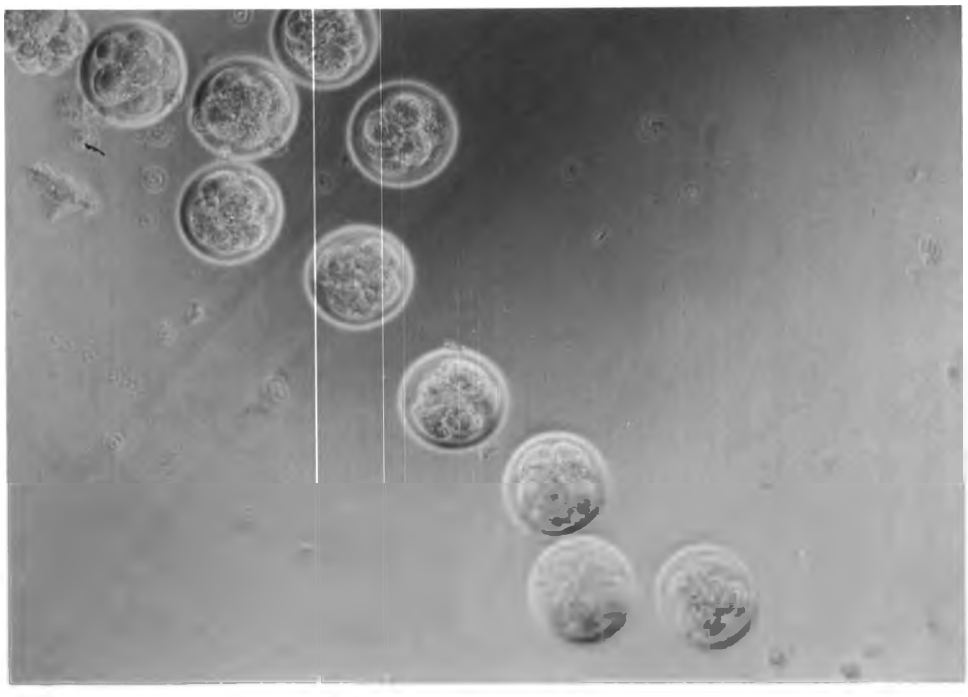
ผลของ taurine และ hypotaurine ต่อการเจริญของเอ็มบริโอ

ผลการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) และน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่เติม taurine ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 10.0 mM และ hypotaurine ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 10.0 mM เช่นกัน (กลุ่มที่ 2-7) สรุปไว้ในตารางที่ 3.1 พบว่า หลังจากการเพาะเลี้ยง 24 ช.ม. เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ (รูปที่ 3.1A) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2 และ HECM-2 ที่มี taurine และ hypotaurine (กลุ่มที่ 2-7) สามารถเจริญไปจนถึงบลาสโตซีส (รูปที่ 3.1B) 67.2%, 87.3%, 85.9%,82.8%, 85.9%, 82.9% และ 82.6% ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทัลมูลทางสถิติแสดงว่า ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่เติม taurine และ hypotaurine ทุกความเข้มข้นสามารถส่งเสริมการเจริญไปเป็นบลาสโตซีสได้ดีกว่าน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ระหว่างกลุ่มทดลองด้วยกัน (กลุ่มที่ 2-7) ผลการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

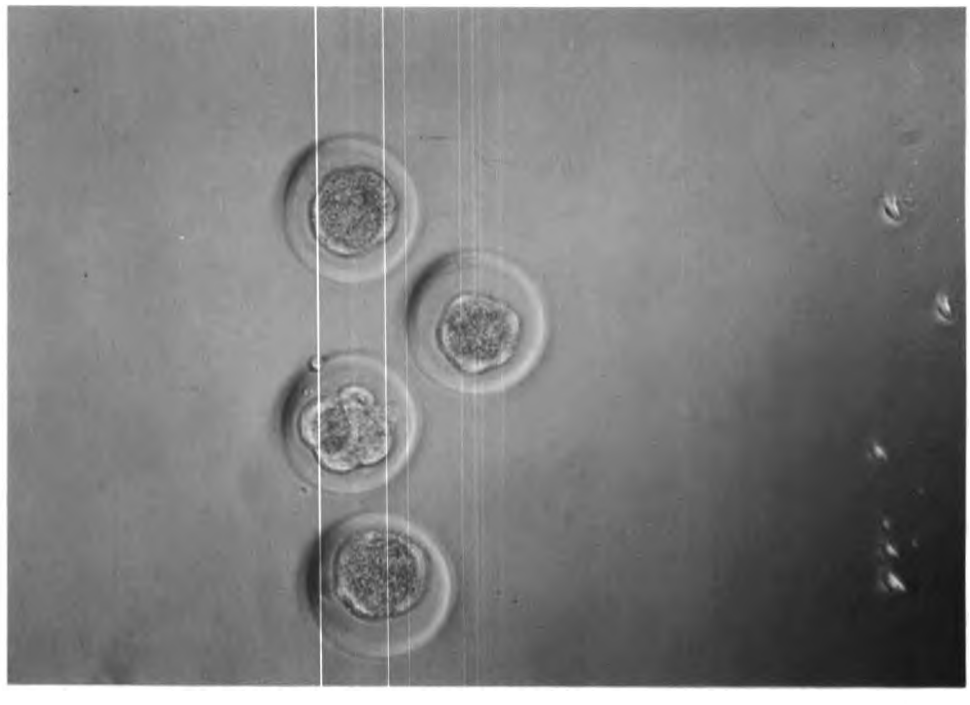
เมื่อติดตามการเจริญของเอ็มบริโอต่อไปจนถึง 48 ช.ม.(ตารางที่ 3.2) พบว่าเปอร์เซ็นต์ของการเจริญไปเป็นบลาสโตซีสเพิ่มขึ้นทั้ง 7 กลุ่ม แต่ผลที่ได้ก็ยังคงเหมือนกับที่ 24 ช.ม. คือกลุ่มที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine และ hypotaurine ทุกความเข้มข้นสามารถเจริญได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) อย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองด้วยกัน (กลุ่มที่ 2-7) และเปอร์เซ็นต์การเจริญไปเป็นบลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา (รูปที่ 3.2A) พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ก็ไม่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเวลาผ่านไป 72 ช.ม. (ตารางที่ 3.3) พบว่าระยะเวลานี้สามารถที่จะ

แยกความแตกต่างระหว่าง taurine และ hypotaurine ได้ โดยดูจากความสามารถในการช่วยให้บลาสโตซีสสามารถมีชีวิตรอดได้ดีกว่ากันและรวมถึงการดีเจนเนอเรทด้วย (รูปที่ 3.2B) เพราะที่เวลา 72 ช.ม. พบว่าโดยทั่วไปแล้วการเจริญของเอ็มบริโอจะเริ่มลดลง จำนวนเอ็มบริโอที่ดีเจนเนอเรทเพิ่มมากขึ้นเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซีสที่ยังมีชีวิตอยู่ในกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) และกลุ่มทดลอง (กลุ่มที่ 2-7) เท่ากับ 9.7%, 22.3%, 20.1%, 19.5%, 15.9%, 17.1% และ 17.2% และเปอร์เซ็นต์การดีเจนเนอเรทที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 87.6%, 72.9%, 74.3%, 75.7%, 79.2%, 77.8% และ 77.7% ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า taurine ทุกความเข้มข้น มีเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซีสสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$) ส่วน hypotaurine ทุกความเข้มข้น แม้จะให้เปอร์เซ็นต์บลาสโตซีสที่ค่อนข้างจะสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าการดีเจนเนอเรทของบลาสโตซีสที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine ทุกความเข้มข้นต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่บลาสโตซีสที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม hypotaurine มีการดีเจนเนอเรทสูงกว่ากลุ่มที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine เล็กน้อยแต่ก็ยังต่ำกว่าในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติแล้ว บลาสโตซีสที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม hypotaurine มีการดีเจนเนอเรทไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine และกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองสรุปได้ว่า taurine และ hypotaurine ทุกความเข้มข้นให้ผลในทางส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอ โดยเฉพาะ taurine ซึ่งให้ผลที่ค่อนข้างจะดีกว่า hypotaurine และเลือกใช้ taurine และ hypotaurine 0.1 mM ในการทดลองต่อไปซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดและให้ผลการเจริญดีที่สุด

A.



B.

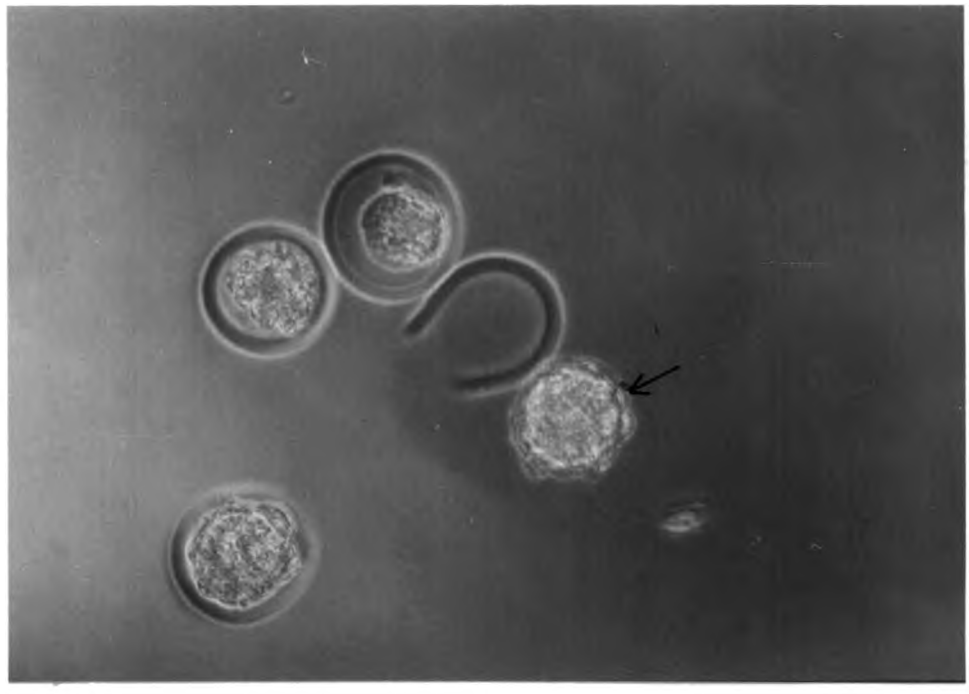


รูปที่ 3.1 แสดงการเจริญของเอ็มบริโอจากระยะ 8-เซลล์ ไปเป็นบลาสโตซีสที่เพาะเลี้ยงภายนอกร่างกายในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่เติม 0.1 mM taurine เป็นเวลา 24 ช.ม.

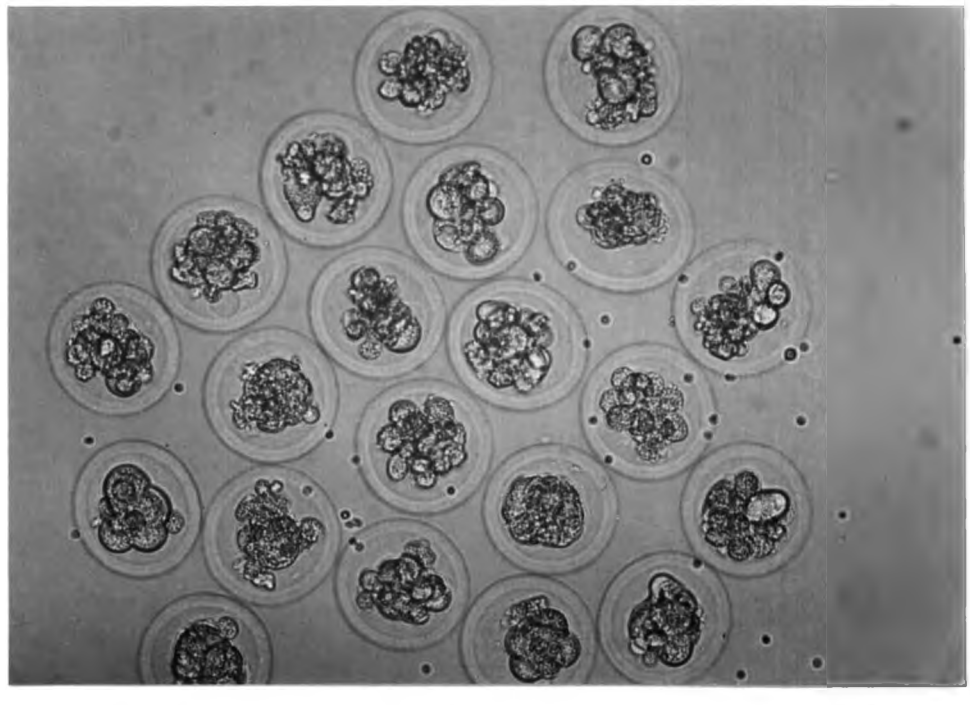
A. เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ ที่นำมาเพาะเลี้ยง

B. เอ็มบริโอระยะบลาสโตซีสที่เจริญภายนอกร่างกาย

I16750 28X.



A.



B.

รูปที่ 3.2 แสดงเอ็มบริโอที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและที่ดีเจนเนอเรท หลังการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่เติม 0.1 mM taurine เป็นเวลา 72 ช.ม.

A. บลาสโตซีสที่ยังมีชีวิตและที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา(ศรชี้)

B. เอ็มบริโอที่ดีเจนเนอเรท บลาสโตเมียจะหลุดแยกออกจากกันและมีสีคล้ำ

ตารางที่ 3.1 การเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส(blastocyst), บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา (hatched blastocyst)และดีเจนเนอเรท(degenerate) หลังการเพาะเลี้ยง 24 ช.ม. ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่มี taurine และ hypotaurine ความเข้มข้นต่างๆ

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยง	บลาสโตซีส		บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา		ดีเจนเนอเรท	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	113	76	(67.2 ± 1.6)	0	0	2	(1.3 ± 0.9)
2	HECM-2 + 0.1 mM Taur	113	98	(87.3 ± 2.9)*	0	0	0	0
3	HECM-2 + 1.0 mM Taur	113	97	(85.9 ± 2.5)*	0	0	0	0
4	HECM-2 + 10.0 mM Taur	119	99	(82.8 ± 2.1)*	0	0	3	(2.3 ± 1.2)
5	HECM-2 + 0.1 mM Ht.	104	89	(85.9 ± 2.6)*	0	0	0	0
6	HECM-2 + 1.0 mM Ht	114	95	(82.9 ± 1.6)*	0	0	2	(1.8 ± 1.2)
7	HECM-2 + 10.0 mM Ht.	108	89	(82.6 ± 2.7)*	0	0	1	(0.7 ± 0.7)

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht. = Hypotaurine

* ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (HECM-2) อย่างมีนัยสำคัญ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3.2 การเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส, บลาสโตซีสที่ไม่มีโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท หลังการเพาะเลี้ยง 48 ช.ม. ในน้ำหาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่มี taurine และ hypotaurine ความเข้มข้นต่างๆ

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยง	บลาสโตซีส		บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา		ดีเจนเนอเรท	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	113	88	(77.8 ± 2.5)	0	0	4	(3.2 ± 1.4)
2	HECM-2 + 0.1 mM Taur	113	107	(89.3 ± 2.2)*	4	(3.6 ± 1.6)	4	(3.4 ± 1.5)
3	HECM-2 + 1.0 mM Taur	113	97	(85.5 ± 2.9)*	3	(2.5 ± 1.3)	7	(5.6 ± 1.9)
4	HECM-2 + 10.0 mM Taur	119	104	(87.8 ± 2.3)*	3	(2.5 ± 1.3)	6	(4.3 ± 1.6)
5	HECM-2 + 0.1 mM Ht	104	93	(89.5 ± 2.3)*	3	(2.6 ± 1.4)	6	(5.0 ± 2.1)
6	HECM-2 + 1.0 mM Ht	114	104	(90.9 ± 2.5)*	2	(1.6 ± 1.1)	5	(5.0 ± 1.9)
7	HECM-2 + 10.0 mM Ht	108	97	(89.9 ± 1.9)*	0	0	3	(2.6 ± 1.4)

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht = Hypotaurine

* ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (HECM - 2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

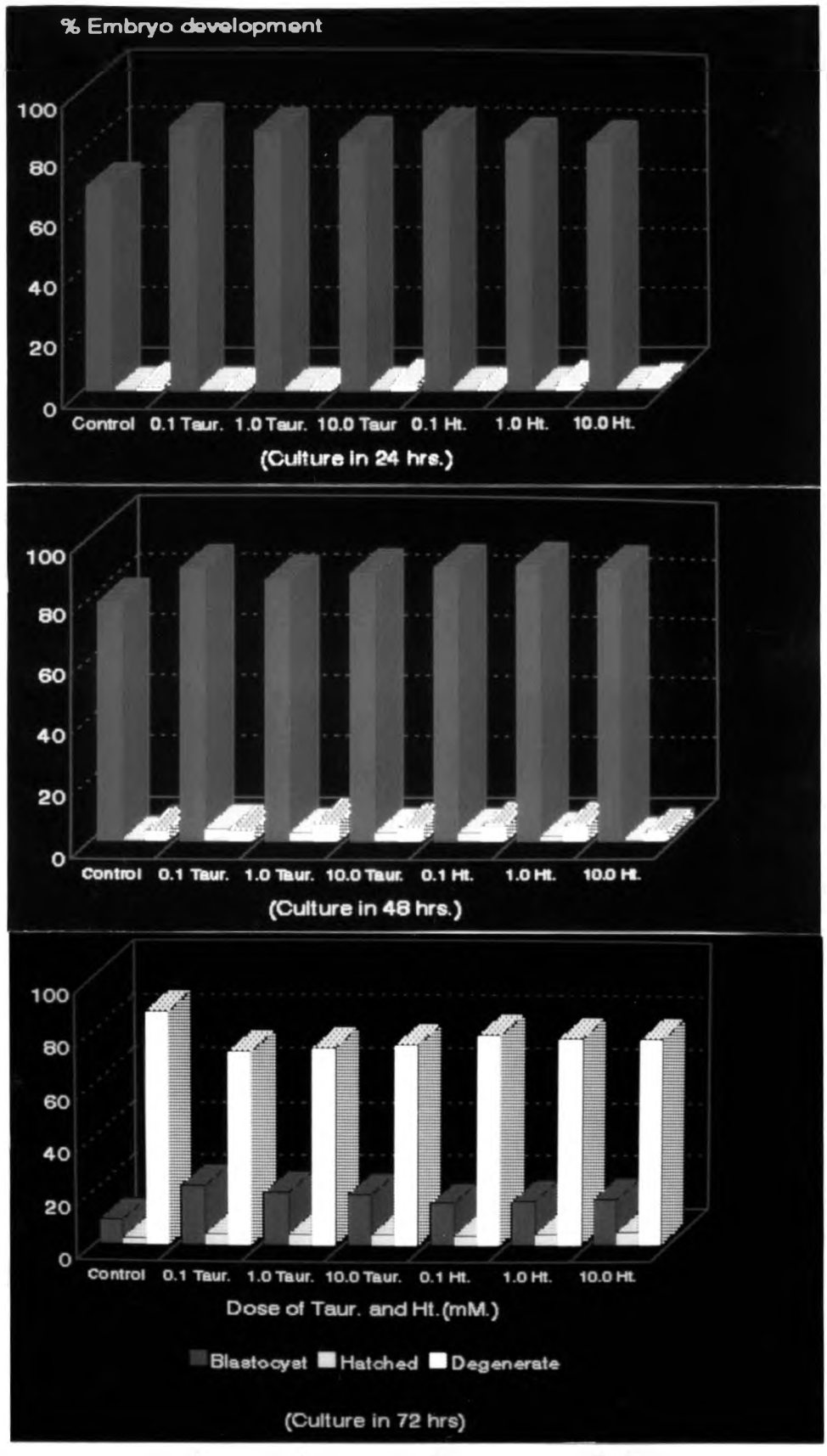
ตารางที่ 3.3 การเจริญของแสัมสเตอร์เล็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส,บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท หลังการเพาะเลี้ยง 72 ช.ม. ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่มี taurine และ hypotaurine ความเข้มข้นต่างๆ

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนเล็มบริโอระยะ 8-เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยง	บลาสโตซีส		บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา		ดีเจนเนอเรท	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	113	12	(9.7 ± 2.5)	3	(2.5 ± 1.3)	98	(87.6 ± 2.9)
2	HECM-2 + 0.1 mM Taur	113	25	(22.3 ± 2.0)*	5	(4.6 ±2.3)	83	(72.9 ± 2.6)*
3	HECM-2 + 1.0 mM Taur	113	23	(20.1 ± 3.3)*	5	(4.5 ± 2.3)	84	(74.3 ± 4.3)*
4	HECM-2 + 10.0 mM Taur	119	22	(19.5 ± 2.2)*	6	(4.6 ± 1.5)	90	(75.7 ± 1.9)*
5	HECM-2 + 0.1 mM Ht.	104	17	(15.9 ± 3.3)	4	(3.8 ± 2.4)	82	(79.2 ± 3.6)
6	HECM-2 + 1.0 mM Ht.	114	20	(17.1 ± 1.7)	5	(4.4 ± 1.7)	90	(77.8 ± 2.4)
7	HECM-2 + 10.0 mM Ht.	108	19	(17.2 ± 1.9)	5	(4.9 ± 1.8)	84	(77.7 ± 3.0)

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht. = Hypotaurine

* ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (HECM - 2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



รูปที่ 3.3 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ ไปเป็นบลาสโตซีส, บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2(กลุ่มควบคุม) และ HECM-2 ที่เติม taurine และ hypotaurine ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ช.ม.

ผลร่วมของ taurine และ hypotaurine ต่อการเจริญของเอ็มบริโอ

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1), น้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่เติม taurine เข้มข้น 0.1 mM, hypotaurine 0.1 mM และ taurine 0.1 mM + hypotaurine 0.1 mM (กลุ่มที่ 2, 3, 4) ตามลำดับ ได้ผลดังตารางที่ 3.4 พบว่าหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชม. เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ในกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1) ,กลุ่มที่เติม taurine, hypotaurine และ taurine + hypotaurine(กลุ่มที่ 2, 3, 4) สามารถเจริญถึงบลาสโตซีสได้ 65.8%, 85.1%, 86.9% และ 86.0% ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงว่า น้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine, hypotaurine และ taurine + hypotaurine สามารถส่งเสริมการเจริญได้ดีกว่าน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโนทั้ง อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ระหว่างกลุ่มทดลองด้วยกัน (กลุ่มที่ 2, 3, 4) ผลการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 48 ช.ม. เอ็มบริโอในกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine, hypotaurine และ taurine + hypotaurine (กลุ่มที่ 2,3,4) มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นบลาสโตซีสเท่ากับ 89.2%, 87.8% และ 91.4% ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม (75.4%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังผลที่แสดงในตารางที่ 3.5 และระหว่างกลุ่มทดลองด้วยกันไม่พบความแตกต่าง ส่วนผลการเจริญเมื่อเวลาผ่านไป 72 ช.ม. แสดงไว้ในตารางที่ 3.6 พบว่าเปอร์เซ็นต์บลาสโตซีสที่ยังมีชีวิตรอดในกลุ่มที่เติม taurine (กลุ่มที่ 2) เท่ากับ 21.9% ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม (10.6%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนกลุ่มที่เติม hypotaurine และ taurine + hypotaurine มีเปอร์เซ็นต์บลาสโตซีส 16.0 % และ 19.1% ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่ถึงขั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และระหว่างกลุ่มทดลองด้วยกัน (กลุ่มที่ 2, 3, 4) ผลก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซ็นต์การดีเจนเนอเรทก็เช่นเดียวกัน คือเฉพาะในกลุ่มที่มี taurine (กลุ่มที่ 2) จะให้เปอร์เซ็นต์การดีเจนเนอเรท ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ(70.1% vs 87.7%,$p<0.05$) จากที่กล่าวมาสามารถสรุปได้ว่า เอ็มบริโอที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine + hypotaurine เจริญได้ดีกว่ากลุ่มที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิด แต่ต่ำกว่ากลุ่มที่เติม taurine เพียงอย่างเดียวและมีแนวโน้มว่าจะดีกว่ากลุ่มที่เติม hypotaurine เพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 3.4 การเจริญของแสมสเตอร์เล็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส, บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท หลังการเพาะเลี้ยง 24 ช.ม.ในน้ำยา HECM-2 ที่มี 0.1 mM taurine , 0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนเล็มบริโอระยะ 8-เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยง	บลาสโตซีส		บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา		ดีเจนเนอเรท	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	122	85	(65.8±1.8)	0	0	0	0
2	HECM-2 + 0.1 mM Taur	123	105	(85.1 ± 2.8)*	0	0	0	0
3	HECM-2 + 0.1 mM Ht	117	102	(86.9 ± 1.8)*	0	0	2	(1.9 ± 1.3)
4	HECM-2 + 0.1 mM Taur+ 0.1 mM Ht	124	107	(86.0 ± 2.9)*	0	0	0	0

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht = Hypotaurine

* ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (HECM - 2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3.5 การเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท หลังการเพาะเลี้ยง 48 ช.ม.ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่มี 0.1 mM taurine ,0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยง	บลาสโตซีส		บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา		ดีเจนเนอเรท	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	122	92	(75.4 ± 2.5)	1	(1.0 ± 1.0)	6	(5.3 ± 1.8)
2	HECM-2 + 0.1 mM Taur	123	110	(89.2 ± 2.5)*	3	(2.9 ± 1.6)	7	(4.7 ± 1.7)
3	HECM-2 + 0.1 mM Ht.	117	103	(87.8 ± 2.4)*	3	(3.0 ± 1.6)	5	(4.3 ± 1.7)
4	HECM-2 + 1.0 mM Taur+ 0.1 mM Ht	124	114	(91.4 ± 2.3)*	2	(1.6 ± 1.1)	3	(2.8 ± 1.5)

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht. = Hypotaurine

* ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (HECM - 2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

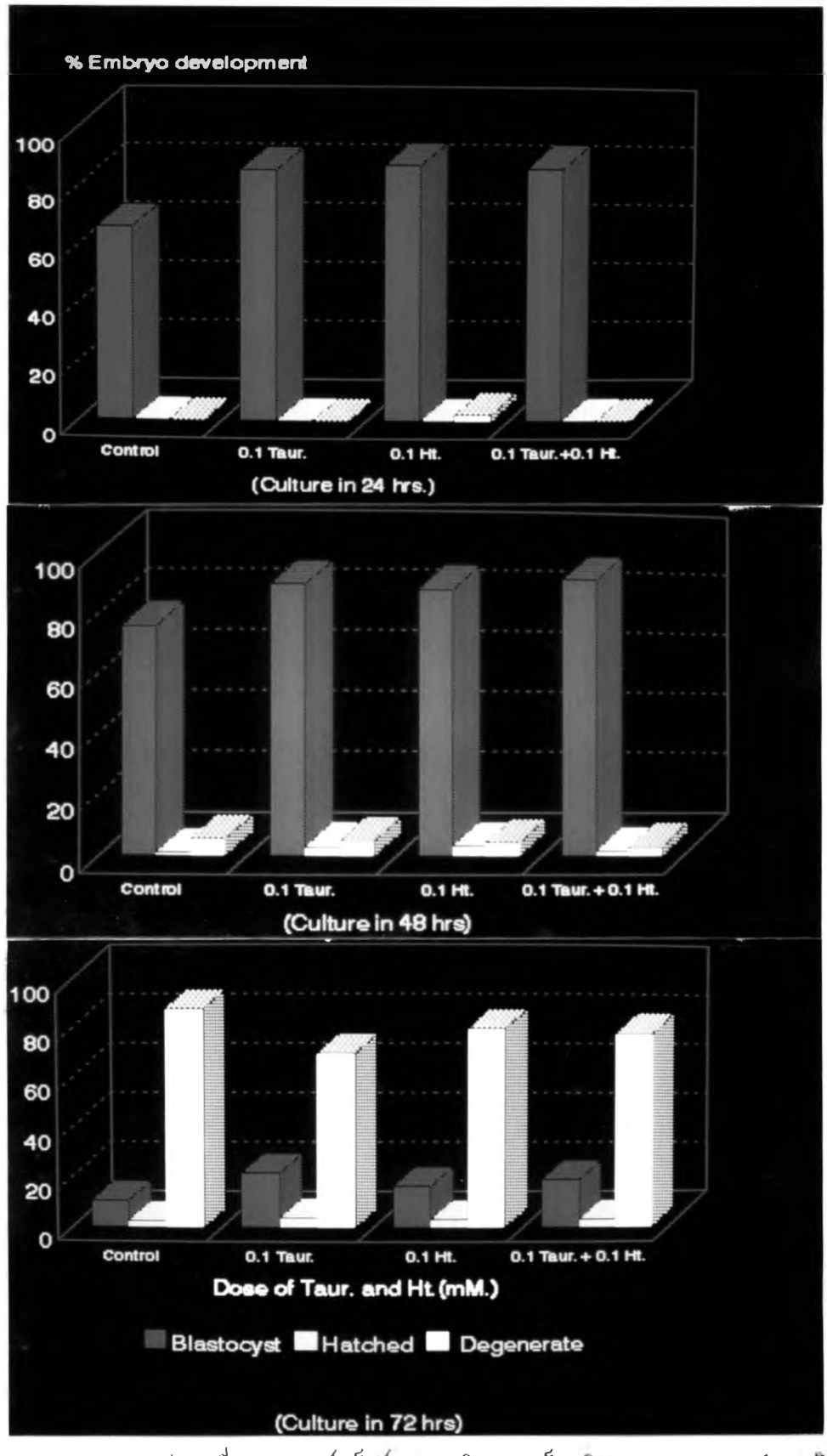
ตารางที่ 3.6 การเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส, บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท หลังการเพาะเลี้ยง 72 ช.ม. ในน้ำเชาเพาะเลี้ยงที่มี 0.1 mM taurine, 0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยง	บลาสโตซีส		บลาสโตซีสที่หลุดจากโซนาเพลูซิดา		ดีเจนเนอเรท	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	122	13	(10.6 ± 2.3)	2	(2.5 ± 1.4)	107	(87.7 ± 2.6)
2	HECM-2 + 0.1 mM taur	123	27	(21.9 ± 1.8)*	5	(4.0 ± 1.7)	88	(70.1 ± 2.6)*
3	HECM-2 + 0.1 mM Ht.	117	19	(16.0 ± 3.3)	3	(3.0 ± 1.6)	94	(79.8 ± 4.3)
4	HECM-2 + 0.1 mM taur+ 0.1 mM Ht	124	23	(19.1 ± 3.2)	4	(3.2 ± 1.5)	97	(78.3 ± 4.0)

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht. = Hypotaurine

* ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (HECM - 2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเจริญของเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซีส์, บลาสโตซีส์ที่หลุดจากโซนาเพลูซิดาและดีเจนเนอเรท ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่เติม 0.1 mM taurine , 0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine และในน้ำยา HECM-2 ที่ไม่เติมกรดอะมิโน 2 ชนิด หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชม.

ความอยู่รอดของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2 (กลุ่มควบคุม), HECM-2+ 0.1 mM taurine, HECM-2 + 0.1 mM hypotaurine และ HECM-2 + 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine หลังการถ่ายฝาก

กลุ่มควบคุม

การถ่ายฝากบลาสโตซีส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2 เพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุม) จำนวน 82 ตัว ไปยังมดลูกของแฮมสเตอร์ตัวรับ จำนวน 9 ตัว โดยทำการถ่ายฝากไปยังมดลูกทั้ง 2 ข้าง ข้างละ 4-6 ตัว จากการทำ laparotomy ในวันที่ 8 ของการตั้งท้อง พบจำนวนฟีตัสทั้งหมด 38 ตัว (45.7%) แต่เป็นฟีตัสที่ตายแล้ว (resorbed fetus) ลักษณะเป็นตุ่มแดงคล้ำ ดังภาพที่ 3.4 จำนวน 33 ตัว (39.6 %) เป็นฟีตัสที่ยังมีชีวิตอยู่ (live fetus) ดังภาพที่ 3.5 จำนวน 5 ตัว (6.0 %) ดังแสดงในตารางที่ 3.7

กลุ่มทดลอง

การถ่ายฝากบลาสโตซีสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 ที่มี 0.1 mM taurine, 0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine (กลุ่มที่ 2, 3, 4) จำนวน 96, 100 และ 83 ตัว เข้าสู่มดลูกของแฮมสเตอร์ตัวรับจำนวน 10, 11 และ 9 ตัว ตามลำดับ โดยทำการถ่ายฝากไปยังมดลูกทั้ง 2 ข้าง ข้างละ 4-6 ตัว พบฟีตัสเมื่อ ทำ laparotomy ในวันที่ 8 ของการตั้งท้องจำนวน 55,59 และ 42 ตัว แบ่งเป็นฟีตัสที่ตายแล้ว 8,20 และ 9 ตัว(8.2% ,19.7% และ 10.9%) ฟีตัสที่มีชีวิต 47,39 และ 33 (48.7%, 35.6% และ 39.8%) ในกลุ่มที่ 2, 3, 4 ตามลำดับ สรุปไว้ในตารางที่ 3.7

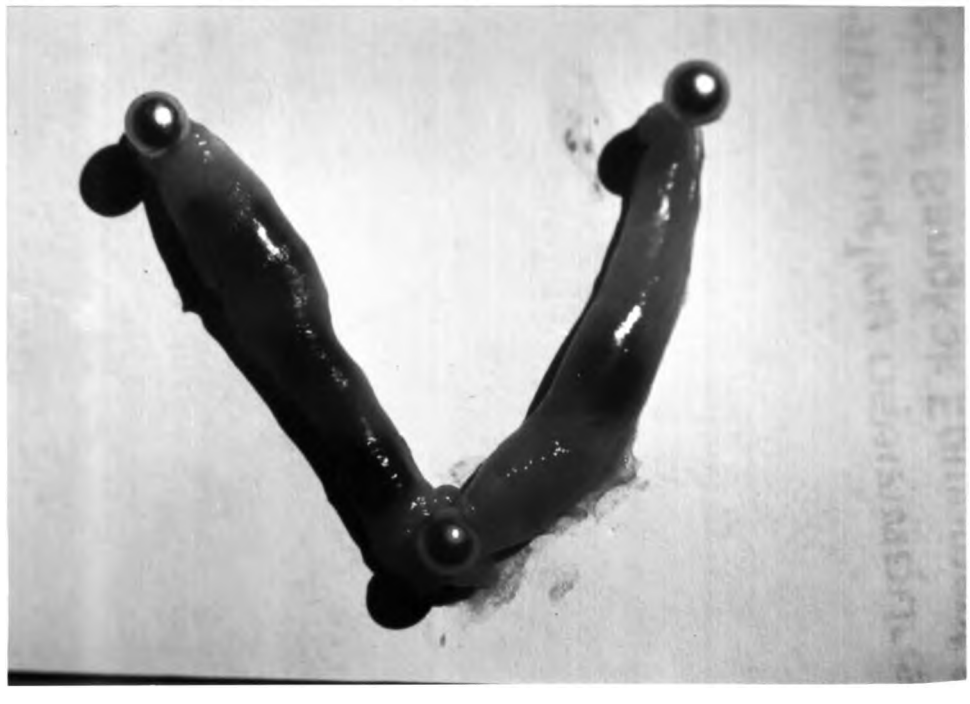
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า เปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่มีชีวิตในมดลูกของตัวรับของกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่เพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2 + 0.1 mMtaurine HECM-2 + 0.1 mM hypotaurine (กลุ่มที่ 3) และ HECM-2 + 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine. (กลุ่มที่ 4) มากกว่ากลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่มีกรดอะมิโนทั้ง 2 ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ 2,

3 และ 4 พบว่ากลุ่มที่เติม taurine (กลุ่มที่ 2) มีเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่มีชีวิต มากว่ากลุ่มที่เติม hypotaurine (กลุ่มที่ 3) อย่างมีนัยสำคัญเช่นนี้ (48.7 % และ 35.6 %) แต่ระหว่างกลุ่มที่เติม hypotaurine อย่างเดียว (กลุ่มที่ 3) และกลุ่มที่เติม taurine + hypotaurine (กลุ่มที่ 4) มีเปอร์เซ็นต์ที่มีชีวิตมากกว่ากลุ่มที่ 3 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และกลุ่มที่ 2 กับกลุ่มที่ 4 ก็พบว่าไม่แตกต่างกัน

ส่วนเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่ตาย พบว่ากลุ่มควบคุมซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่เติมกรดอะมิโนลงในน้ำยาเพาะเลี้ยง มีเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่ตายมากกว่ากลุ่มที่เติม taurine, hypotaurine และ taurine + hypotaurine (กลุ่มที่ 2, 3, 4) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 2, 3 และ 4 พบว่ากลุ่มที่เติม taurine (กลุ่มที่ 2) มีเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่ตายน้อยกว่ากลุ่มที่เติม hypotaurine (กลุ่มที่ 3) อย่างมีนัยสำคัญ (8.2 % และ 19.7 %, $p<0.05$) และกลุ่มที่เติม hypotaurine อย่างเดียว (กลุ่มที่ 3) มีเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่ตายมากกว่ากลุ่มที่เติมกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ (19.7 % และ 10.9 %, $P<0.05$) ส่วนกลุ่ม 2 และ กลุ่ม 4 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเลี้ยงแฮมสเตอร์ทั้งหมดไว้จนครบกำหนดคลอด พบว่ามีจำนวนลูกที่คลอด (young born) จากการถ่ายฝากบลาสโตซีสของกลุ่มที่เพาะเลี้ยงในน้ำยาที่มี taurine, hypotaurine และ taurine + hypotaurine มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโนเล็กน้อย (ตารางที่ 3.11) แต่ข้อมูลที่ได้ไม่สามารถนำมาแปลผลการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติได้ เพราะมีปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้องกับการพบจำนวนลูกที่คลอดในกลุ่มต่างๆ ซึ่งจะได้อธิบายไว้ในบทวิจารณ์และสรุปผลต่อไป

รูปที่ 3.5 แสดงลักษณะของฟีตัสที่มีชีวิต(live fetus) หลังการถ่ายฝากบลาสโตซีส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2



รูปที่ 3.6 แสดงลักษณะของฟีตัสที่ตาย (resorbed fetus) หลังการถ่ายฝากบลาสโตซีสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2

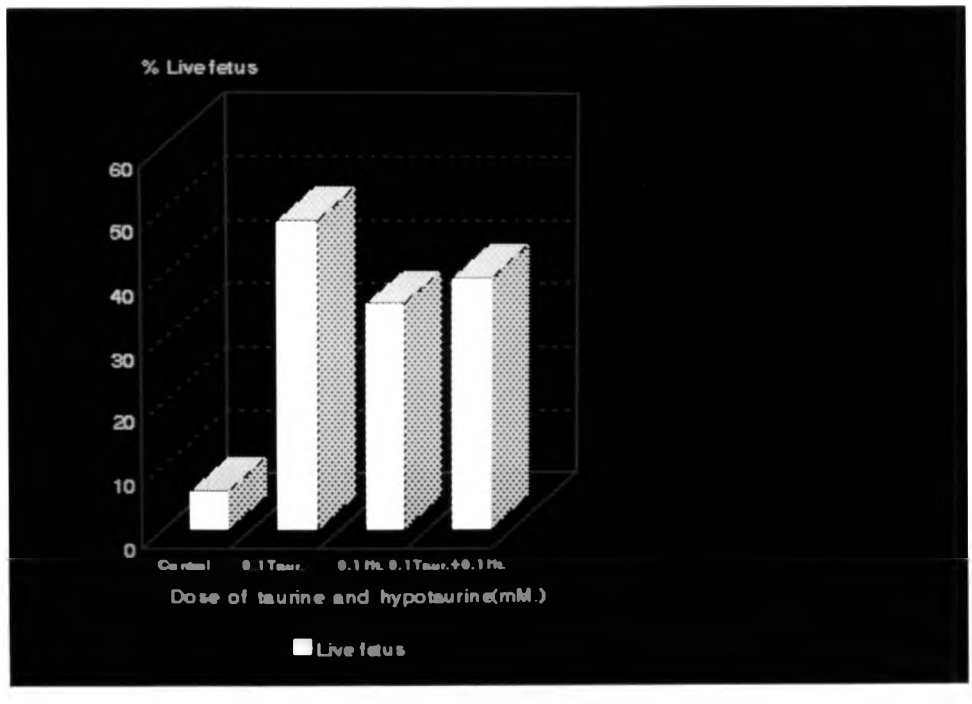
ตารางที่ 3.7 แสดงการฝ่ายฝากเอ็มบริโอระยะบลาสโตซีสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงภายนอกร่างกายในน้ำยาเพาะเลี้ยง HECM-2 + 0.1 mM taurine,0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine เข้าสู่ตัวรับที่ตั้งท้องเทียม

กลุ่มที่	ทรีตเมนต์	จำนวนบลาสโตซีสที่ฝ่ายฝาก	ฟีตัสที่มีชีวิต		ฟีตัสที่ตาย	
			จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	82	5	$(6 \pm 2.6)^{abc}$	33	$(39.6 \pm 2.0)^{abc}$
2	HECM-2 + 0.1 mM Taur	96	47	$(48.7 \pm 4.2)^{ad}$	8	$(8.2 \pm 2.5)^{ad}$
3	HECM-2 + 0.1 mM Ht.	100	39	$(35.6 \pm 3.3)^{bd}$	20	$(19.7 \pm 2.4)^{dd}$
4	HECM-2 + 0.1 mM Taur + 0.1 mM Ht.	83	33	$(39.8 \pm 3.4)^{c}$	9	$(10.9 \pm 3.1)^{cd}$

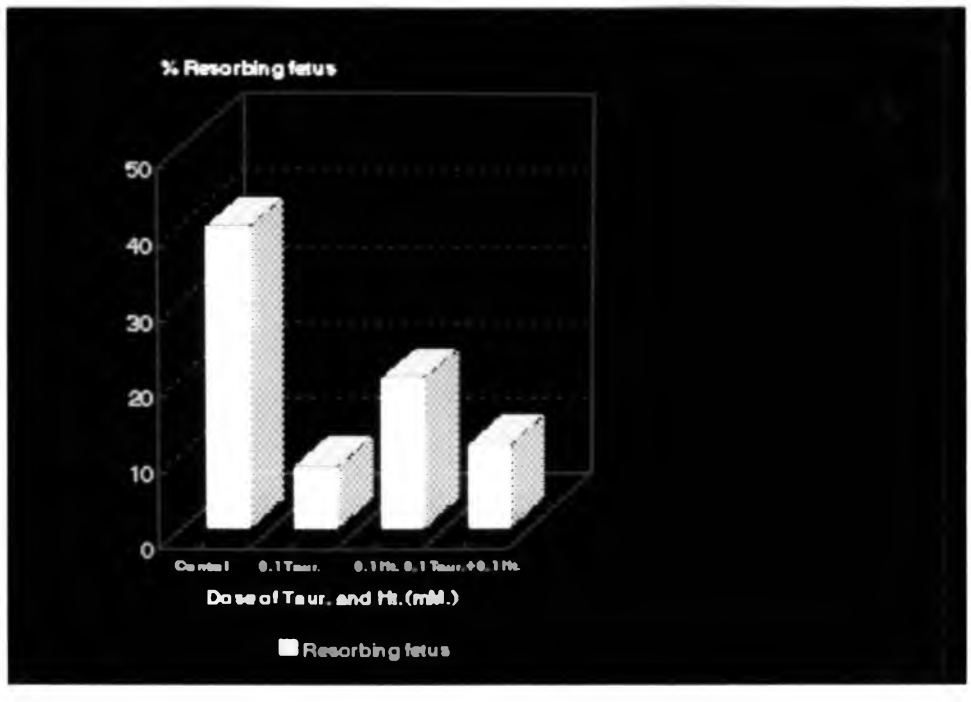
หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht. = Hypotaurine

Superscript เดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)



รูปที่ 3.7 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่มีชีวิตที่ผนังมดลูก ในวันที่ 8 ของการตั้งท้องหลังการถ่ายฝากบลาสโตซีส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงภายนอกร่างกายในน้ำยา HECM-2, HECM-2 + 0.1 mM taurine, HECM-2 + 0.1 mM hypotaurine และ HECM-2 + 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine



รูปที่ 3.8 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ฟีตัสที่ตายที่ผนังมดลูก ในวันที่ 8 ของการตั้งท้องหลังการถ่ายฝากบลาสโตซีสท์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2 + 0.1 mM taurine, HECM-2 + 0.1 mM hypotaurine และ HECM-2 + 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine

ตารางที่ 3.8 แสดงจำนวนลูกที่คลอด(young born) หลังการถ่ายฝากบลาสโตซีสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยา HECM-2(กลุ่มควบคุม),HECM-2 ที่เติม 0.1 mM taurine, 0.1 mM hypotaurine และ 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine

กลุ่มที่	ทรีทเมนต์	จำนวนบลาสโตซีส	ลูกที่คลอด	
		ที่ถ่ายฝาก	จำนวน	ค่าเฉลี่ยของ % ± SE
1	HECM-2	82	0	0
2	HECM-2+0.1 mM taur	96	5	(5.2 ± 2.2)
3	HECM-2+0.1 mM Ht	100	6	(5.5 ± 2.2)
4	HECM-2+0.1 mM taur 0.1 mM Ht	83	3	(3.3 ± 1.6)

หมายเหตุ Taur = Taurine

Ht = Hypotaurine