

การศึกษาเบื้องต้นของการเก็บโอโอไซต์โดยใช้เครื่องตรวจอวัยวะภายใน ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในกระบือปลักสาว

เอกชาติ พรหมดิเรก* มงคล เตชะกำพุ*
นาวเพ็ญ ภูतिकนิษฐ* อัญชลี ณ เชียงใหม่**

Abstract

Akachart Promdireg* Mongkol Techakumphu* Nawapen Phutikanit* Ancharlie Na-Chiangmai**

A PRELIMINARY STUDY ON OOCYTE COLLECTION USING TRANSVAGINAL ULTRASOUND IN SWAMP BUFFALO HEIF- ERS (*BUBALAS BUBALIS*)

The objective of the study was to investigate the possibility of collecting oocytes using transvaginal ultrasound-guidance, in swamp buffalo heifers, after gonadotropin stimulation. Five swamp buffalo heifers were given a single dose of 3,000 IU of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) intramuscularly in order to stimulate the ovaries. Examination of the ovarian responses were carried out 48h after stimulation, the follicles were subsequently punctured and the oocytes examine under a stereomicroscope. The results of the ovarian response were 6.6 ± 1.1 follicles per animal with an average diameter of 7.1 ± 4.1 mm. The mean number of oocytes collected per animal was 4.1 ± 2.0 which gave a recovery rate of 63%. The oocytes were classified as cumulus oocyte complexes (COC), 17.2% (5/29); single and partial cumulus oocytes (S+P), 10.3% (3/29); denuded cumulus oocytes, 48.3% (14/29); expanded cumulus oocytes (EXP), 3.5% (1/29) and zona pellucida, 20.7% (6/29), respectively. This study shows it is possible to collection the oocytes in swamp buffalo heifers by using a transvaginal, ultrasound-guided, follicle aspiration technique.

Key words : swamp buffalo heifers, oocyte collection, transvaginal ultrasound, follicle aspiration

* Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

** Department of Animal Husbandry, Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok 10200

* ภาควิชาสูติศาสตร์ เภสัชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

** กองบำรุงพันธุ์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ 10200

บทคัดย่อ

เอกชาติ พรหมศิริ* มงคล เตชะกำพุ* นวเพ็ญ ภูติกนิษฐ* อัญชลี ณ เชียงใหม่**

การศึกษาเบื้องต้นของการเก็บโอโอไซต์โดยใช้เครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในกระบือปลักสาว

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเก็บโอโอไซต์โดยใช้เครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยความถี่สูง ตรวจหาฟอลลิเคิลในกระบือปลักสาวจำนวน 5 ตัว หลังทำการกระตุ้นรังไข่ด้วยฮอร์โมนเพรกแนนท์ แอมร์ซีรัม โกลโนโดโทรปิน (พีเอ็มเอสจี) ขนาด 3,000 ใอยู ฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพียงครั้งเดียว ตรวจการตอบสนองของรังไข่ 48 ชม. หลังการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นด้วยเครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นความถี่สูง ชนิดเรียลไทม์ บี-โหมดผ่านผนังช่องคลอด หลังจากนั้นทำการเจาะเก็บโอโอไซต์ และตรวจหาภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่ากระบือปลักสาวก่อนวัยเจริญพันธุ์มีการตอบสนองของรังไข่เฉลี่ยเท่ากับ 6.6 ± 1.1 ฟอลลิเคิลต่อตัว ($n=46$) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลเฉลี่ยเท่ากับ 7.1 ± 4.1 มิลลิเมตร และจำนวนโอโอไซต์ที่ได้จากการเจาะเก็บเฉลี่ยเท่ากับ 4.1 ± 2.0 โอโอไซต์ต่อตัว ($n=29$) คิดเป็นอัตราการเก็บโอโอไซต์เท่ากับ 63% เมื่อนำมาจำแนกชนิด พบว่าเป็นโอโอไซต์ชนิดที่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้มหลายชั้นเท่ากับ 17.2% (5/29) ชนิดที่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้ม 1-3 ชั้นเท่ากับ 10.3% (3/29) ชนิดที่ไม่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้มเท่ากับ 48.3% (14/29) ชนิดที่มีเซลล์คิวมูลัสกระจายเท่ากับ 3.5% (1/29) และชนิดที่ไม่มีไซโตพลาสซึมและมีไซโตพลาสซึมล้อมสลายเท่ากับ 20.7% (6/29) จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ชี้ให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่นำวิธีการเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีดังกล่าวนี้มาใช้ในกระบือปลักได้

คำสำคัญ : กระบือปลักสาว การเก็บโอโอไซต์ การเจาะฟอลลิเคิล เครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงผ่านผนังช่องคลอด

บทนำ

การเก็บโอโอไซต์จากตัวสัตว์เพื่อนำไปทำการปฏิสนธิในร่างกายนั้นแต่เดิมมักใช้วิธีการเก็บโอโอไซต์จากการเจาะเก็บโดยตรงจากฟอลลิเคิลของรังไข่ที่มาจากโรงฆ่าสัตว์ซึ่งมีข้อดีในแง่ของค่าน้ำเงินจำนวนมาก แต่มีข้อเสียที่มักไม่รู้คุณค่าทางพันธุกรรมของสัตว์ (มงคล, 2543) ส่วนการเก็บด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การเก็บผ่านช่องท้องด้วยกล้อง ล่าปาโรสโคปี (laparoscopy) ให้ผลไม่แน่นอน

(Lambert et al., 1983) หรือการเก็บด้วยการผ่าตัดเปิดช่องท้อง (laparotomy) และ ดูดโอโอไซต์โดยตรงวิธีนี้เหมาะที่จะทำในสัตว์ขนาดเล็กเช่น แพะ แกะ สุกร ลูกโค ลูกกระบือแต่มีข้อเสียคือไม่สามารถที่จะทำซ้ำได้หลายเพราะอาจมีการซีดคิดของอวัยวะสืบพันธุ์กับอวัยวะภายใน เช่น ลำไส้ กระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น (มงคลและคณะ, 2537; รังสีและคณะ, 2538; Kruij et al., 1994) ด้วยข้อจำกัดของการเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น ได้มีการพัฒนาและ

นำเทคนิคการเก็บโอโอไซต์ ด้วยเข็มเจาะคู่ร่วมกับ การใช้เครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ชนิดเรียลไทม์ บี-โมด มาใช้ซึ่งเป็นเทคนิคการเก็บที่มีการพัฒนามาจากการเก็บโอโอไซต์ในสตรีโดยเทคนิคนี้ มีการนำมาพัฒนาใช้ในสัตว์หลายชนิด เช่น แพะ แกะ โค ม้า เป็นต้น ส่วนในกระบือนั้นมีการศึกษากันน้อยมาก จุดประสงค์ของงานทดลองนี้ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีโอฟิอุในกระบือปลักสาว

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

กระบือปลักสาวอายุ 2.5 ปี น้ำหนักประมาณ 250 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว เลี้ยงไว้ภาควิชาสัตวศาสตร์ เชนววิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตำบลอโพลิส อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ทำการทดลองในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม 2543

การกระตุ้นรังไข่

ฉีดฮอร์โมนเพรกแนนท์แมร์ ซีรัม โกลโนโดโทรปิน* ขนาด 3,000 I.U. เขากล้ามเพียงครั้งเดียว ตรวจการตอบสนองของรังไข่ 48 ชั่วโมง หลังจากการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นด้วยเครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงชนิดเรียลไทม์ บี-โมด ชนิดสอดผ่านช่องคลอด และprobe ที่มีคลื่นความถี่ 5 MHz หลังจากนั้นทำการเจาะเก็บโอโอไซต์และตรวจหาไข่ได้ทดลองจุดทรนศน์สเตอร์ไอ

การเก็บโอโอไซต์

อดอาหารและน้ำกระบือประมาณ 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะทำการเจาะเก็บโอโอไซต์ควบคุมกระบือให้ขึ้นอยู่กับบังคับ

ชุดของการทำการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยการใช้เครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงสอดผ่านทางช่องคลอด ประกอบด้วย

ก) เครื่องตรวจอวัยวะภายในด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง โดยมีจอรับภาพให้เห็นภาพของฟอลลิเคิลและรังไข่ ขณะเจาะตลอดจนแนวเข็มที่เจาะ

ข) Convex array transvaginal probe** ขนาดความถี่ 5 MHz Ovum aspiration set ประกอบด้วย

ก) เข็มเจาะเบอร์ 17 ยาว 34.5 ซม.***

ข) Vacuum pump***

ค) test tube heater***

หลังจากควบคุมกระบือให้ขึ้นอยู่กับบังคับแล้ว ก่อนการเก็บโอโอไซต์ฉีดยากล่อมประสาท Xylazine HCl*** ขนาด 6 มก. ต่อน้ำหนัก 100 กก. เพื่อให้สัตว์อยู่ในความสงบเพราะหากสัตว์มีการเคลื่อนไหวมาก จะทำให้ลำบากต่อการจับรังไข่ไม่ให้เคลื่อนไหว ขณะเจาะจับรังไข่ไม่ให้เคลื่อนไหว ขณะเจาะให้ยากล่อมประสาท ร่วมกับการให้ยาชาเข้าไขสันหลังโดยฉีดยาชา 2% Xylocaine HCL จำนวน 1 มล. เพื่อลดการเคลื่อนไหวในส่วนนั้นท้าย และความเจ็บปวดจากการเจาะรังไข่ด้วย

ล้างอุจจาระที่อยู่ในทวารหนักออก จากนั้นล้างและทำความสะอาดบริเวณปากช่องคลอดด้วยยาฆ่าเชื้อ และเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ สอด transvaginal probe ที่ทาปลายด้วย acoustic gel และสวมหุ้ม probe ด้วยถุง

* PMSG, Folligon® , Intervet, Netherland

** Aloka, SSD-620, Japan

*** Looney Bovine Ovum Aspiration Set, V-BOAS-17r35-8VIAS, Cook Veterinary Products, Australia

**** Rompun® , Bayer Korea Ltd., Seoul, Korea

หุ้มต้องไม่ให้มีอากาศอยู่ระหว่างตัว probe และถุงหุ้มตัวปลาย probe เขาทางด้านบนของคลอด และให้สุดจนถึงหน้าคอมดลูก ใช้มืออีกมือหนึ่ง ล้วงผ่านทางทวารหนักเพื่อหารังไข่ และดึงมาให้ อยู่ในแนวหน้าตัดของ probe ภาพของรังไข่จะปรากฏ อยู่บนจอรับภาพ โดยปลายของตัว probe สามารถ เคลื่อนลงในแนวต่าง ๆ ทั้งรอบแกน probe แนวตั้งแนวคานหน้าคานหลังและแนวนอนได้ เมื่อ ตรวจการตอบสนองของรังไข่หลังกระตุ้นด้วยฮอร์โมน โดยนับจำนวนฟอลลิเคิลในรังไข่ทั้ง 2 ข้าง แล้วก่อนที่จะทำการเจาะเก็บโอโอไซท์ให้ติดตัว probe ด้วยเข็มเจาะโอโอไซท์แทงเข็มทะลุผนังบน ของช่องคลอด เมื่อเข็มถูกแทงผ่านผนังช่องคลอดจะ เห็นปลายเข็มได้ เนื่องจากตรงปลายของปากเข็ม จะเป็นร่องตามช่องเล็ก ๆ จะแตกต่างกับตัวเข็ม ทำให้สังเกตเห็นได้สะดวก ทำการเจาะฟอลลิเคิลที่มี ขนาด 2 มม. ขึ้นไป สามารถมองเห็นและควบคุมได้ ผ่านจอภาพขณะเจาะโอโอไซท์ปลายเข็มจะปรากฏ แนวเส้นประของเข็มต้นทะลุฟอลลิเคิลอย่างช้า ๆ ขณะดูดต้องทำ negative pressure อยู่ตลอดด้วยการ ควบคุมแรงดูดด้วยเครื่อง pump ที่มี switch ปิด-เปิด เป็นแผ่น pedal บังคับด้วยเท้า เมื่อปลายเข็มเข้าไป ในฟอลลิเคิลดูดโอโอไซท์พร้อมของเหลวในพรอม ของเหลวในฟอลลิเคิลด้วยความแรง 80-100 mm.Hg กดเพื่อให้ดูดของเหลวเข้ามาอย่างต่อเนื่อง ผนัง ฟอลลิเคิลจะแฟบลงทันทีของเหลว ที่ถูกดูดไหลเข้าไปตามท่อเอทิลีนที่เคลือบด้วยสารเฮปารินลงใน หลอดพลาสติกปลอดเชื้อที่มี 0.9% NSS และ 10% fetal calf serum บรรจุอยู่

ทำการดูดที่ละฟอลลิเคิล โดยใช้มือที่ล้วงใน ทวารหนักจับรังไข่พลิกไปมาให้ฟอลลิเคิลที่จะเจาะ อยู่ในแนวปลายเข็มเจาะฟอลลิเคิลจนครบทุกฟอลลิ เคิลจนครบทุกฟอลลิเคิลที่สังเกตเห็น หลังเสร็จรัง ไข่ด้านหนึ่งทำการเจาะฟอลลิเคิลในรังไข่อีกข้างหนึ่ง ด้วยวิธีการเดียวกันหลังดูดเก็บแล้วควรถ่ายปฏิชีวนะ ชนิดเพนิซิลลิน 1,000,000 ไอยู และเสตรปโต มัยซิน 1250 มก.* เขากล้าม เพื่อป้องกันการติดเชื้อ ในกระป๋องหมายเลข B03 และ B05 เก็บ 2 ครั้ง ห่าง กัน 1 สัปดาห์ โดยมีโปรแกรมการกระตุ้นเช่น เดียวกับครั้งแรก

การตรวจหาโอโอไซท์

ตามปกติของเหลวที่ดูดออกมาจะมีเลือดปนด้วย เพราะช่วงเจาะผ่านผนังฟอลลิเคิลอาจไปทิ่มแทงเนื้อ เนื้อรังไข่ ให้นำของเหลวที่เจาะได้เทใส่ในกรวย กรองตัวอ่อนขนาด 0.45 ไมครอน** ชะล้างด้วยน้ำ เกลือ 0.9% เกล็ดตาม เพื่อล้างเลือดโดยของเหลวที่ เหลืออยู่จะใส่สายต่อการ ตรวจหาชะล้างโอโอไซท์ที่ อยู่บนกรวยกรองตัวอ่อนลงในจานพลาสติกแล้วตรวจ หาภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ กำลังขยาย 40 เท่า เก็บ โอโอไซท์ในน้ำยา TCM 199 2.5 mM HEPES (TCM-199 powder 9.5 กรัม NaHCO_3 0.35 กรัม/ ลิตร เพนิซิลลิน 0.06 กรัม/ลิตร เสตรปโตมัยซิน 0.05 กรัม/ลิตร HEPES 4.766 กรัม/ลิตร) และจัดชนิด ของโอโอไซท์เป็น 5 ลักษณะคือ

Cumulus oocyte complex (COC), Expand cumulus oocyte (EXP), Single and Partial cumu-

* Aescostrep forte® , Farvet Laboratories B.V., Bladel, Netherland.

** EM Con Filter, KRUSE, Sweden.

ตารางที่ 1 ผลการตอบสนองของรังไข่หลังกระตุ้นด้วยฮอร์โมนเพรกแนนท์แมร์ ซีรัม โกลโคโดโทรปิน (พีเอ็มเอสจี) การเก็บโอโอไซท์และชนิดของโอโอไซท์ที่เก็บโดยวิธีโอฟิยูในกระป๋องปลักสาว

ลูก กระป๋อง	ครั้งของ การ กระตุ้น	การตอบ สนองของ รังไข่	ขนาดเส้นผ่า ศูนย์กลาง หลังกระตุ้น ของฟอลลิเคิล เฉลี่ย(มม.)	จำนวน โอโอไซท์ที่ เจาะเก็บได้	ชนิดโอโอไซท์					อัตรา การ เก็บ โอโอไซท์ (%)
					COC (%)	S+P (%)	D (%)	Exp (%)	Z+Deg (%)	
B01	1	5	5	4	3	-	-	1	-	80.0
B02	1	8	5	6	1	-	2	-	3	75.0
B03	1	8	4	7	-	2	4	-	1	87.5
	2	6	10	1	-	-	1	-	-	16.7
B04	1	6	12	3	-	-	3	-	-	50.0
B05	1	6	7	4	1	-	2	-	1	66.7
	2	7	7	4	-	1	2	-	1	54.1
รวม		46	4-12*	29	5/29 (17.2)	3/29 (10.3)	14/29 (48.3)	1/29 (3.5)	6/29 (20.7)	29/46 (63.0)
X +SD		6.6+1.1	7.1+4.1	4.1+2.0	0.7+1.4	0.4+1.3	2.0+1.0	0.1+0.9	0.9+2.1	

*พิสัย

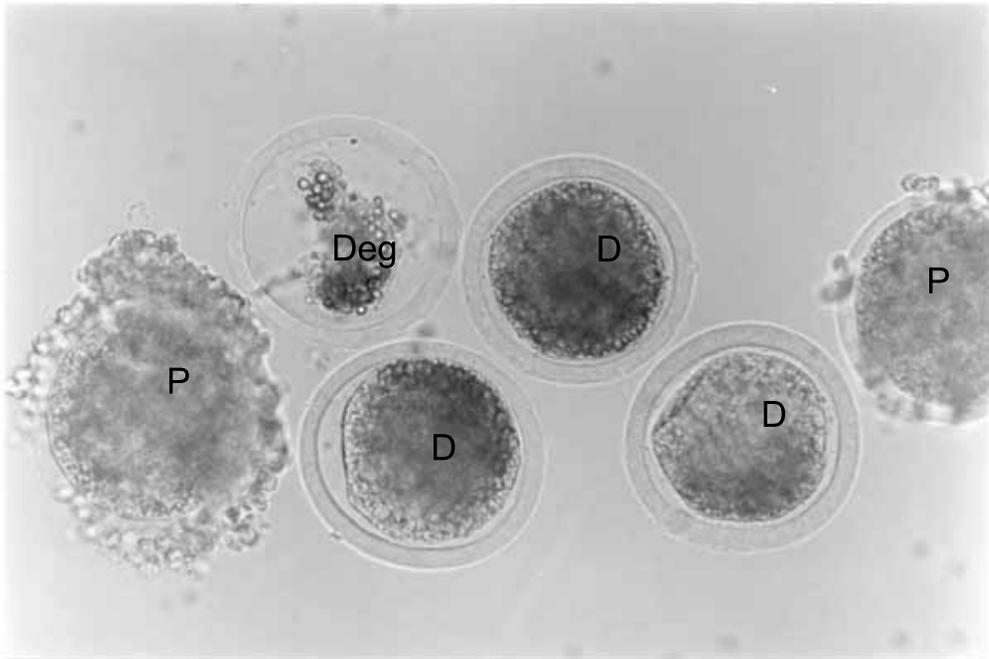
lus oocyte (S+P), Denuded oocyte (D), Degenerated oocyte (Deg), Zona pellucida (Z)

บันทึกภาพของโอโอไซท์แต่ละชนิดที่อยู่ในน้ำยาเก็บโอโอไซท์ทันที

ผล

จากการกระตุ้นรังไข่ด้วยฮอร์โมน พีเอ็มเอสจีพบว่ากระป๋องปลักสาวก่อน วยเจริญพันธุ์มีการตอบสนองของรังไข่เฉลี่ยเท่ากับ 6.6+1.1 ฟอลลิเคิลต่อตัว (46/7) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 7.1+4.1 มม. และจำนวนโอโอไซท์ที่ได้จากการเจาะเก็บเฉลี่ยเท่ากับ

4.1+2.0 โอโอไซท์ต่อตัว (29/7) คิดเป็นอัตราการเก็บโอโอไซท์เท่ากับ 63.0% (29/46) ผันแปรจาก 16.7% ถึง 87.5% เมื่อนำมาจำแนกชนิดพบว่าส่วนใหญ่เป็นโอโอไซท์ ชนิดที่ไม่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้ม (D) เท่ากับ 48.3% (14/29) นอกจากนั้นเป็นชนิดที่ไม่มีไซโตพลาสซึม และไซโตพลาสซึมเสื่อมสลายเท่ากับ 20.7% (6/29) ชนิดที่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้มหลายชั้นเท่ากับ 17.2% (5/29) ชนิดที่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้ม 1-3 ชั้นเท่ากับ 10.3% (3/29) และชนิดที่มีเซลล์คิวมูลัสกระจายตัวเท่ากับ 3.5% (1/29) ตามลำดับ (ตารางที่ 1) (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 โอโอไซท์ที่เจาะเก็บได้จากรังไข่ของกระบือปลักสาวหลังกระตุ้นด้วยฮอร์โมนที่เอ็มเอสจี เมื่อตรวจหาด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (P: Partial cumulus oocyte, D: Denuded oocyte, Deg: Degenerated oocyte) (กำลังขยาย 20x)

วิจารณ์

จากผลการศึกษาเบื้องต้นนี้พบว่ามีความเป็นไปได้ในการเก็บโอโอไซท์ด้วยวิธีการเจาะผ่านผนังช่องคลอดด้วยวิธีโอพียูในกระบือปลักสาวก่อนวัยเจริญพันธุ์ โดยมีข้อดีคือสามารถเก็บซ้ำได้หลายครั้งใช้เวลาในการปฏิบัติน้อยกว่าการเก็บด้วยการผ่าตัด (มงคล, 2543 ติดต่อกับเป็นการส่วนตัว) จากการทดลองพบว่า การเก็บโอโอไซท์ในกระบือหนึ่งตัวจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที กระบือสามารถปรับตัวเป็นปกติได้ทันทีหลังจากเก็บโอโอไซท์ สิ่งสำคัญที่ทำให้ประสบความสำเร็จในการเจาะเก็บโอโอไซท์ด้วยวิธีโอพียูคือการจับรังไข่ เพราะหากสัตว์ตื่นจะทำให้รังไข่ที่จับไว้หลุดมือ ทิศทางการเจาะจะเคลื่อนทำให้เสียเวลาดังนั้นการฉีดยาชาชนิด 2% Xylocaine HCl

เข้าไขสันหลังทำให้การทำงานสะดวกขึ้น แต่ต้องไม่เข็มมากเกินไปเพราะจะเกิดโพรงอากาศในทวารหนัก ทำให้การจับรังไข่เป็นไปได้ยากขึ้น การให้ยากล่อมประสาทจะช่วยให้กระบือไม่ตื่นรนและเคลื่อนไหวบ่อยสะดวกต่อการควบคุม แต่ไม่ควรให้มากเกินไปเพราะจะทำให้สัตว์ลมลงนอนได้ รวมทั้งกระบือแต่ละตัวจะมีการตอบสนองต่อการให้ยากล่อมประสาทไม่เท่ากัน การบังคับสัตว์เป็นสิ่งที่ต้องคำนึง โดยเฉพาะขนาดของช่องท้องที่จับบังคับ ควรมีขนาดเหมาะสมกับขนาดของสัตว์ อีกสิ่งหนึ่งที่สำคัญคือเทคนิคการเจาะผ่านผนังช่องคลอดต้องระวังเป็นพิเศษเพราะอาจแทงทะลุเข้าไปในทวารหนัก และทำให้เกิดการอักเสบของช่องท้องจากมูลที่ติดปลายเข็มได้ นอกจากนี้เข็มที่ใช้

เจาะและท่อโปลีเอทีลีนที่ต่ออยู่ควรเคลือบด้วยน้ำยาละลายด้วยสารละลายเฮปารินก่อนทุกครั้งเพื่อป้องกันการอุดตันของเลือดที่คูดเข้ามาจากรังไข่ (มงคล, 2543)

การตอบสนองของรังไข่ต่อการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนที่เอ็มเอสจีพบว่าตอบสนองทุกตัวแต่มีการตอบสนองของรังไข่ไม่มากนักโดยมีการตอบสนองของรังไข่เฉลี่ยเพียง 6.6+1.1 فولลิเคิลต่อตัว จำนวนการตอบสนองจะขึ้นกับขนาดและชนิดของฮอร์โมน โกลนาโดโทรปินที่ไซซึ่งฮอร์โมน โกลนาโดโทรปินชนิดที่เอ็มเอสจีให้ผลการตอบสนองต่ำกว่าชนิดเอฟเอสเอชและมีความผันแปรของขนาด فولลิเคิลที่ตอบสนองมากกว่า (มงคล และคณะ, 2537) นอกจากนี้้นกระบือเป็นสัตว์ที่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนตัวและในกระบือแต่ละตัวก็มีความแตกต่างกันของการตอบสนองต่อการกระตุ้นและยังขึ้นกับโปรแกรมของการกระตุ้นที่ไซ (Hashimoto et al., 2000) ในการเก็บโอโอไซต์แบบโอพียูนี้ได้จำนวนโอโอไซต์เฉลี่ยประมาณ 4.1+2.0 โอโอไซต์ต่อตัว ซึ่งต่ำกว่าจำนวนโอโอไซต์ที่สังเกตเห็นบนจอภาพและต่ำกว่าจำนวนที่จะด้วยการคูดโดยตรวจจากรังไข่หลังเปิดช่องท้อง (Techakumphu et al., 2000a, b) โดยอัตราการเก็บคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกับที่ Pavasuthipaisit และคณะ (1995) รายงานไว้ประมาณ 50-60%

สำหรับโอโอไซต์ที่ได้เมื่อจำแนกชนิด พบว่าเป็นโอโอไซต์ชนิดที่ยังไม่เจริญ (immature) โดยส่วนใหญ่เป็นชนิดที่ไม่มีเซลล์คิวมูลัสหุ้มทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากระดับของแรงในการคูดที่แรงมากเกินไปทำให้มีการหลุดออกไปของเซลล์คิวมูลัสได้ และที่เหมือนกับการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีโอพียูในลูกโคพื้นเมืองก่อนวัยเจริญพันธุ์ที่ได้ทำการศึกษาโดยชัยณรงค์ และคณะ (2538) คือพบเปลือกของโอโอไซต์เปล่า ๆ ที่ไม่มีไซโตพลาสซึมจำนวนมาก ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวสันนิษฐานว่ามาจาก فولลิเคิลขนาดเล็กที่ไซโตพลาสซึมยังไม่ได้พัฒนา

สรุปได้ว่าจากการศึกษาเบื้องต้นครั้งนี้มีความเป็นไปได้ที่จะนำการเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีโอพียูมาใช้ในการเก็บโอโอไซต์ในกระบือปลักสาวก่อนวัยเจริญพันธุ์ แต่อาจจะต้องมีการปรับในด้านของโปรแกรมการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน ชนิดของฮอร์โมนที่ไซตลอดจนการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความสำเร็จในการทำโอพียู เช่น ความแรงของการคูดเก็บที่ไซเป็นต้น ให้เหมาะสมเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของการเก็บให้ดีขึ้น วิธีนี้ในโคสามารถสามารถทำซ้ำหลาย ๆ ครั้งทุกสัปดาห์แต่ละครั้งหรือสองครั้งติดต่อกัน 5 เดือน โดยไม่มีผลกระทบของการทำงานของรังไข่ไม่ทำให้เกิดการยึดติดของรังไข่กับอวัยวะภายใน เช่นที่พบในการเก็บจากการเปิดช่องท้องทำให้สัตว์ไม่บอบช้ำมากและไม่ยุ่งยากในการดูแลสัตว์หลังการเจาะเก็บ เหมือนกับการผ่าตัด (Kruip et al., 1994) ดังนั้นวิธีนี้น่าจะเป็นวิธีการที่ปรับใช้กับกระบือพันธุ์ดีเพื่อเก็บโอโอไซต์และนำไปทำการปฏิสนธิในอกร่างกายเพื่อผลิตตัวอ่อนสำหรับขยายฝาก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2543 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ขอขอบคุณกองบำรุงพันธุ์กรมปศุสัตว์ที่ได้อนุเคราะห์อนุเคราะห์กระบือทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ชัยณรงค์ โลหะจิต มงคล เตชะกำพูน วิชัย ทันทศุภารักษ์ เกวลี นัตถรงค์ และ ศิริวัฒน์ ทรวทตรง 2538 (1995) Ovum Pick Up ในลูกโคพื้นเมืองไทย เวชสารสัตวแพทย์ 25(4): 303-312.
 มงคล เตชะกำพูน ชัยณรงค์ โลหะจิต วิชัย ทันทศุภารักษ์ วันเพ็ญ ศรีอนันต์ จินดา สิงห์ต้อ และจินตนา อินทรมงคล 2537 (1994) การไซฮอร์โมน โกลนาโดโทรปินเพื่อ

- กระตุ้นการเจริญของฟอลลิเคิลในรังไข่ของลูก
กระบือปลักก่อนวัยเจริญพันธุ์ รายงานผล
การวิจัยทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปี
2537 23 หน้า.
- มงคล เตชะกำพุ 2543 (2000) การเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธี
ใช้เครื่องมือคลื่นเสียงความถี่สูง เทคโนโลยี
การย้ายฝากตัวอ่อนเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ใน
ปลูสัตว์ สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน้า 445-478.
- รังสี อุดุลยานภาพ มงคล เตชะกำพุ ชัยณรงค์ โลหะจิต
วันเพ็ญ ศรีอนันต์และจินดา สิงห์ล่อ 2538(1995)
ผลตอบสนองของรังไข่และการเก็บโอโอไซต์ของ
ลูกโคพื้นเมืองไทยก่อนวัยเจริญพันธุ์ การประชุม
วิชาการสัตวแพทยครั้งที่ 22 โรงแรมมารวย
กรุงเทพมหานคร, 20-22 พฤศจิกายน 2538, 150-157.
- Hashimoto, S., Takakura, R., Yoshinari, M.,
Minami, N., Yamada, M., Imai, H. and
Kashima, N. 2000. Relationship between the
responsiveness to multiple-ovulation treat-
ment and the number of bovine oocytes
collection by transvaginal follicle aspiration.
J. Vet. Med. Sci. 62(6): 647-650.
- Kruip, T.H. A.M., Boni, R., Wurth, Y.A., Roelofsen,
M.W.M. and Pieterse, M.C. 1994. Potent-
ial use of ovum pick-up for embryo pro-
duction and breeding in cattle. Therioge-
nology. 42: 675-684.
- Lambert, R.D., Bernard, C., Rioux, J.E., Beland,
R., D, Aours, D. and Treouil, A. 1983.
Endoscopy in cattle by the paralumbar
route technique for ovarian examination
and follicular aspiration. Theriogenology.
20:149-161.
- Pavasuthipaisit, K., Holyoak, R. G., Tocharus,
C. and Kitiyanant, Y. 1995. Repeated
transvaginal follicular aspiration in swamp
buffalo. Theriogenology. 43(1): 295.(Abstr.)
- Techakumphu, M., Phutikanit, N. Suadsong,
S., Bhumibhamon, T., Pita, A. and Coygasem, G.
2000a. Effect of GnRH supplement in FSH
or PMSG treatments for prepubertal swamp
buffalo calves (*Bubalus bubalis*). J. Vet. Med.
Sci. 62(3): 269-272.
- Techakumphu, M., Lohachit, C., Tantasuparak,
W., Intaramongkol, C. and Intaramongkol,
S. 2000b. Ovarian responses and oocyte
recovery in prepubertal swamp buffalo
(*Bubalus bubalis*) calves after FSH or PMSG
treatment. Theriogenology 54(2): 305-316.