



#### บทที่ 4

### วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาถึงความสำคัญของกรดอะมิโน taurine และ hypotaurine ต่อการเจริญของแอมัสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์นอกร่างกายพบว่า ใน 24 ช.ม. แรกของการเพาะเลี้ยง กรดอะมิโน taurine และ hypotaurine ที่เติมลงไปในน้ำยาเพาะเลี้ยง HEOM-2 ทุกความเข้มข้น (0.1, 1.0 และ 10.0 mM) สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตเป็นบลาสโตซิสต์ได้มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ระยะเวลาสั้นเกินกว่าที่จะสามารถบอกถึงความแตกต่างระหว่าง taurine และ hypotaurine ได้ว่า ความเข้มข้นใดให้ผลการเจริญที่ดีกว่ากันและความเข้มข้นใดดีที่สุด ดังนั้นจึงทำการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอให้นานขึ้นไปอีกจนถึง 72 ช.ม. พิจารณาความสามารถในการทำสไปท์ให้เอ็มบริโอเจริญต่อไปถึงขั้นหลุดจากโซนาเพลอซิดาและมีตัวอ่อนได้มากกว่า ขณะเดียวกันก็ดูถึงเปอร์เซ็นต์ของเอ็มบริโอที่ตีเจเนเนอเร็ตด้วยพบว่า เฉพาะเอ็มบริโอที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine ทุกความเข้มข้น มีเปอร์เซ็นต์บลาสโตซิสต์สูงสู่อุดสูงกว่าและเปอร์เซ็นต์ตีเจเนเนอเร็ตต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโน อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเอ็มบริโอที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม hypotaurine ทุกความเข้มข้น แม้จะมีเปอร์เซ็นต์บลาสโตซิสต์ที่สู่อุดมากกว่าและเปอร์เซ็นต์ตีเจเนเนอเร็ตต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโน แต่ไม่ถึงขั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบเอ็มบริโอระหว่างกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine และกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม hypotaurine ทุกความเข้มข้นพบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงอาจสรุปในขั้นแรกนี้ได้ว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนั้นน่าจะเป็นความเข้มข้น 0.1 mM ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดและให้ผลดีที่สุด และสามารถกล่าวได้ว่า taurine ให้ผลดีกว่า hypotaurine และเมื่อเปรียบเทียบก็พบผลการเจริญและความสู่อุดของเอ็มบริโอที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม 0.1 mM taurine + 0.1 mM hypotaurine พบว่าเอ็มบริโอที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มี taurine + hypotaurine เจริญเป็นบลาสโตซิสต์ดีกว่ากลุ่มที่เลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโนทั้ง

2 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ แต่หลังการเพาะเลี้ยง 72 ชม. กลับพบแนวโน้มว่าความเข้มข้นของ บลาสโตซิสในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีการห่อหุ้มโบนทั้ง 2 ชนิดต่ำกว่าในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติม taurine เพียงอย่างเดียวและสูงกว่า hypotaurine แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

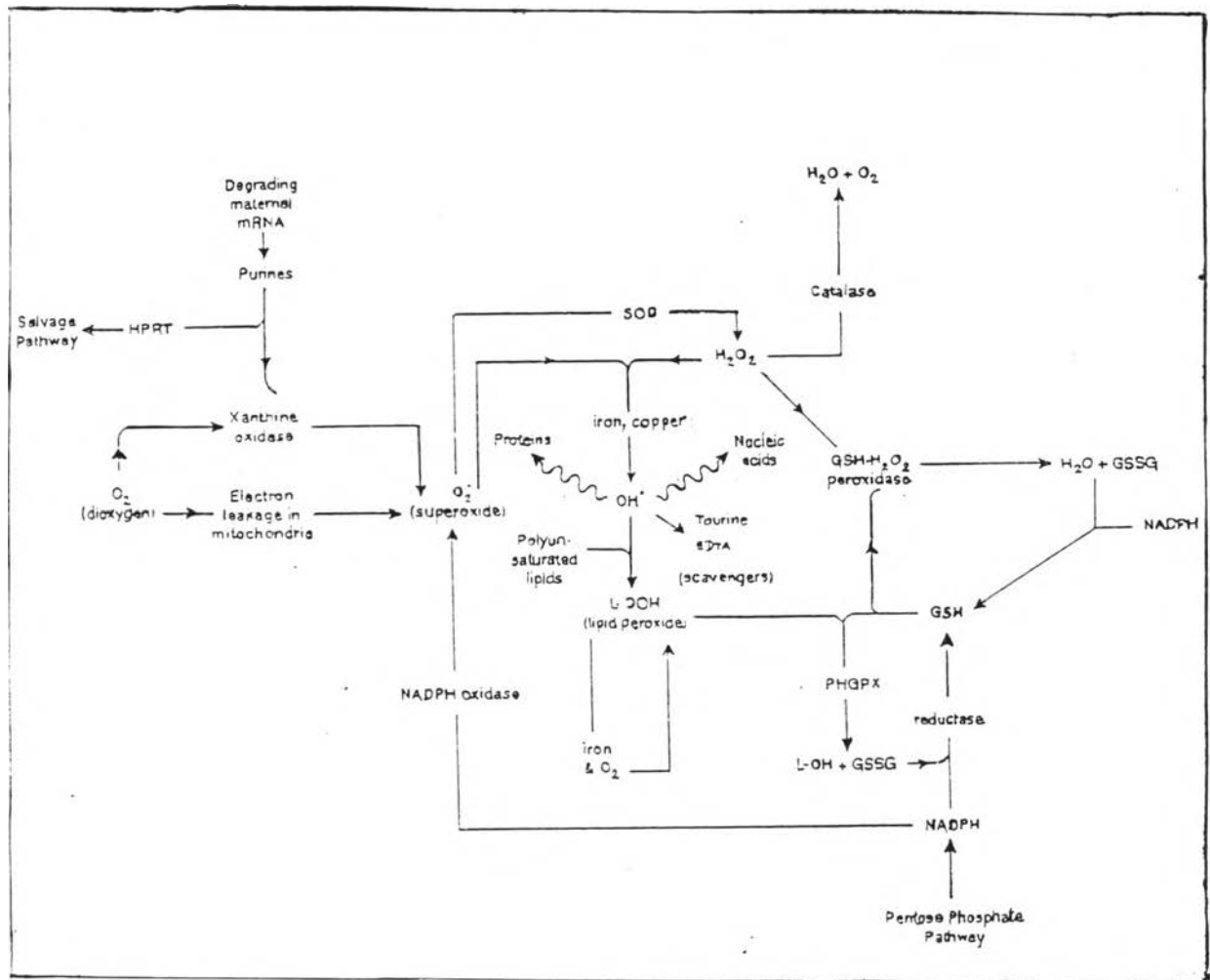
จากผลการทดลองที่สรุปไว้ข้างต้นนี้ แสดงให้เห็นว่า taurine และ hypotaurine ต่างก็มีผลส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอระยะ 8 เซลล์ ตลอดจนสามารถช่วยให้ อสุรีรอดเมื่ออยู่ภายนอกร่างกายเป็นเวลานาน ซึ่งสอดคล้องและสนับสนุนรายงานของ Reed และคณะ (1991) ที่พบว่า taurine และ hypotaurine สามารถส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอหมดจากรยะ 1-2 เซลล์ไปเป็นบลาสโตซิส (67% และ 80.0% ตามลำดับ) แต่ผลการทดลอง คู่กันจะแตกต่างกัน ตรงที่ว่าสำหรับเอ็มบริโอหมด hypotaurine ส่งเสริมการเจริญได้ดีกว่า taurine แต่ในการทดลองในเอ็มบริโอครั้งนี้ taurine ให้ผลดีกว่า hypotaurine ข้อขัดแย้งนี้อาจแสดงว่า taurine และ hypotaurine จะมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอที่แตกต่างกันออกไปตามสปีชีส์ของสัตว์ ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับตัวเอ็มบริโอเองหรือคุณสมบัติของ taurine และ hypotaurine ก็เป็นไปได้ ซึ่งรายละเอียดจะได้กล่าวในช่วงต่อไป

นอกจากนี้จากการศึกษาในครั้งนี้ยังพบอีกว่า taurine ให้ผลการเจริญตลอดจนความ อสุรีรอดเมื่ออยู่ภายนอกร่างกายนานขึ้นและความอสุรีรอดหลังการถ่ายฝากดีกว่า hypotaurine ส่วนผลของ taurine + hypotaurine จะอยู่ในลักษณะผลที่อยู่ระหว่างกลางของผลของ taurine และ hypotaurine ซึ่งกลไกการทำงานของ taurine และ hypotaurine ในการส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอนั้น ในระยะแรกนักวิจัยที่ทำการศึกษาก็ได้ให้ข้อเสนอแนะไว้ว่ากลไกการทำงานน่าจะคล้ายคลึงกับบทบาทในการส่งเสริมการเคลื่อนที่ของสเปิร์มของกระด้าย และเอ็มบริโอ ซึ่งได้แก่กลไกเกี่ยวกับการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา peroxidation ซึ่งรวมถึงปฏิกิริยา lipid peroxidation ด้วย และนอกจากนี้ยังอาจกำจัดความเป็นพิษจากสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าวด้วยซึ่งได้แก่ free oxygen radicals (FORS) (Mrsny et al., 1979; Alvarez and Storey, 1983; Reed et al., 1992; Barnett and Bavister,

1992)

แต่อย่างไรก็ตามในระยะแรกของการศึกษาของนักวิจัยหลายท่านเกี่ยวกับเรื่องนี้ ยังคงไม่พบหลักฐานแน่นอนที่จะแสดงให้เห็นว่า taurine และ hypotaurine ส่งเสริมการเจริญของ เอ็มบริโอด้วยการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา peroxidation และกำจัด free oxygen radicals จนกระทั่งในปี 1994 Johnson และ Nasr-Esfashani ได้กล่าวถึง free oxygen radicals ซึ่งเป็นสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยา peroxidation ว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เอ็มบริโอก่อนการฝังตัวของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดไม่สามารถเจริญต่อไปได้หรือมีการเจริญที่ช้ากว่าปกติ เมื่อเพาะเลี้ยงภายนอกร่างกาย และนอกจากนี้ยังได้อธิบายถึงขั้นตอนการศึกษาไว้ค่อนข้างละเอียดว่าจุดสนใจเกี่ยวกับ free oxygen radicals เริ่มต้นมาจากรายงานการศึกษาที่ว่า การเพาะเลี้ยงเซลล์ภายนอกร่างกายส่วนใหญ่จะมีการสร้าง free oxygen radicals ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์ แต่ความเป็นพิษนั้นจะมากหรือน้อยหรือไม่มีเลย ขึ้นอยู่กับว่าในเซลล์แต่ละชนิดจะมีกลไกการลดพิษหรือกำจัดพิษหรือไม่มากนักเอง (Halliwell and Gutteridge, 1989) ดังนั้นใบเรื่องของการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเขาก็ได้ตั้งสมมติฐานว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอภายนอกร่างกายส่วนใหญ่จะมีการสร้าง free oxygen radicals ขึ้นมาเหมือนกัน แต่การที่เอ็มบริโอของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิดไม่ถูก free oxygen radicals ยับยั้งการเจริญ อาจเป็นเพราะเอ็มบริโอของสัตว์ชนิดนั้น ๆ มีกลไกป้องกันการเกิดปฏิกิริยา peroxidation หรือมีกลไกทำลายความเป็นพิษ และได้ทำการพิสูจน์โดยใช้หนูเมาส์สายพันธุ์ที่ไม่สามารถเจริญผ่านระยะ 2-เซลล์และกระต่ายสายพันธุ์ที่เจริญช้ากว่าปกติ ซึ่งจากการทดลองเขาก็ได้พบข้อมูลที่สนับสนุนความคิดและสมมติฐานดังกล่าวว่า 1. สามารถตรวจพบ free oxygen radicals ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงในเอ็มบริโอที่ไม่สามารถเจริญผ่านระยะ 2-เซลล์ เมื่อเพาะเลี้ยงภายนอกร่างกาย 2. ถ้าเติมสารประกอบบางชนิดเช่น EDTA, taurine หรือ enzyme superoxide dismutase (SOD) ลงไปในน้ำเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอพบว่าสามารถลดปริมาณ free oxygen radicals ลงได้และสามารถสนับสนุนการเจริญต่อไปได้

ต่อมาเขาก็ได้เริ่มศึกษาสาเหตุของการเกิด free oxygen radicals ดังกล่าวใน  
 เติมบริโอรระยะก่อนการฝังตัวที่เพาะเลี้ยงภายนอกร่างกายและไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ประกอบ  
 กับอาศัยผลการศึกษานักวิจัยท่านอื่น ๆ เท่าที่มี จนในที่สุดเขาก็ได้เสนอ pathway การ  
 สร้างและการกำจัด free oxygen radicals ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 pathways การสร้างและการทำลาย free oxygen radicals ที่เกิดขึ้นภายใน  
 ในเอ็มบริโอรระยะก่อนการฝังตัวในหนูเม้าส์ที่ไม่สามารถเจริญผ่านระยะ 2-เซลล์  
 และกระต่ายสายพันธุ์ที่เจริญได้ช้ากว่าปกติ (Johnson and Nasr-Esfahani, 1994)

จะเห็นว่าโอกาสที่จะเกิด free oxygen radicals มีมากเพราะบาง pathway อาจเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา เช่นการเกิด free oxygen radicals ที่เกิดจากการรั่วไหลของ electron ระหว่างที่มีการถ่ายทอด electron แล้วไปรวมกับ  $O_2$  แต่ในขณะเดียวกันเขาก็พบว่ากลไกการกำจัดก็มี ดังนั้นค่าอธิบายที่น่าจะเหมาะสมผลมากที่สุดในการเกิดพิษต่อเอ็มบริโอคือ เมื่อใดก็ตามที่กลไกการกำจัดและการสร้างไม่สมดุลกัน เมื่อนั้นความเป็นพิษก็จะเกิดขึ้น ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่เอ็มบริโอของหนูเม้าส์สายพันธุ์ที่ไม่สามารถเจริญผ่านระยะ 2-เซลล์ไปได้ หรือกระด้างบางสายพันธุ์ที่เจริญช้ากว่าปกติ จะมีกลไกการกำจัดน้อยกว่าการเกิด free oxygen radicals นอกจากนี้เขาได้กล่าวเพิ่มเติมว่าบาง pathway ที่แสดงในรูปที่ 4.1 บางสปีชีส์อาจไม่มีก็ได้

#### pathway การสร้าง free oxygen radicals

1. ในระหว่างที่มีการถ่ายทอด electron (electron transfer) พบว่าจะมีการรั่วไหลของ electron ด้วย ซึ่ง electron นี้จะไปรวมกับ  $O_2$  เกิดเป็น superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ) (Johnson and Nasr-Esfahani, 1994)

2. เมื่อ gene ของเอ็มบริโอถูก activate แล้ว mRNA ของมันจะหมดหน้าที่ลงและถูกสลายจนเป็นเบส purine ซึ่งส่วนหนึ่งจะถูกนำกลับไปใช้ใหม่แต่อีกส่วนหนึ่งจะถูกสลายด้วย xanthine oxidase พบว่าในขั้นตอนการย่อยสลาย purine ด้วย xanthine oxidase จะเกิดการรวมตัวระหว่าง electron กับ  $O_2$  เกิดเป็น  $O_2^{\cdot-}$  (Nureddin et al., 1990)

3. ในกระบวนการสลาย nicotinamide adenine dinucleotide (NADPH) เป็น oxidized form (NADP) พบว่าจะมีการรวมตัวกันของ electron กับ  $O_2$  เกิดเป็น  $O_2^{\cdot-}$  (O'Fallon and Wright, 1986)

4. ถ้า superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ) หรือ hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) รวมกับโลหะหนัก เช่น iron หรือ copper จะเกิดเป็น free oxygen radicals ชนิดที่มีพิษมากที่สุดคือ hydroxy radical ( $OH^{\cdot}$ ) ซึ่งจะไปทำลาย protein ต่างๆ ซึ่งรวมถึง membrane protein ส่งผลให้ permeability ของ membrane เปลี่ยนไป (Domoulin et al., 1992) และนอกจากนี้ยังอาจทำลาย nucleic acid ด้วย (Johnson and Nasr-Esfahani, 1994)

5. hydroxy radicals ( $\text{OH}^\cdot$ ) เมื่อรวมกับ polyunsaturated lipids จะเกิดเป็น lipid peroxide (Johnson and Nasr-Esfahani, 1994)

pathway การกำจัด free oxygen radicals และการลดความเป็นพิษลง

1.  $\text{O}_2^\cdot$  ที่เกิดขึ้นอาจทำให้ความเป็นพิษลดลงได้ด้วย enzyme superoxide dismutase (SOD) ภายในเซลล์เกิดเป็น  $\text{H}_2\text{O}_2$  ซึ่งถ้ารวมกับ iron หรือ copper ก็สามารถเกิดเป็น hydroxy radical ได้ (Kyle et al., 1988) แล้วถูกทำลายด้วย (glutathione hydrogen peroxide peroxidase) GSH- $\text{H}_2\text{O}_2$  peroxidase และ catalase ต่อไป

2. GSH- $\text{H}_2\text{O}_2$  peroxidase รวมกับ reduced glutathione (GSH) สามารถกำจัด  $\text{H}_2\text{O}_2$  เป็น oxidized glutathione (GS) +  $\text{H}_2\text{O}$  และ catalase สามารถเปลี่ยน  $\text{H}_2\text{O}_2$  เป็น  $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

3. lipid peroxide peroxidase เมื่อรวมกับ GSH สามารถกำจัด lipid peroxide ได้

4. taurine และ EDTA สามารถกำจัด free oxygen radicals (Johnson and Nasr-Esfahani, 1994)

นอกจากนี้เขายังได้เสนอเพิ่มอีกว่า free radicals ที่เกิดขึ้นแต่ละชนิดนั้นสามารถที่จะกระตุ้นให้เกิด free radicals ชนิดอื่น ๆ ได้อีกหลายชนิดและเป็นลูกโซ่ (chain reaction) และจาก pathway การกำจัดที่กล่าวมาแล้ว จะสังเกตเห็นว่าตัวกำจัดชนิดหนึ่งที่กล่าวถึงได้แก่ taurine ซึ่งเป็น scavenger ของ free radicals และอาจรวมถึง hypotaurine ซึ่งก็สนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้อย่างหนึ่งด้วย นอกจากนี้รายงานการศึกษาของ Nakayama และคณะ (1993) ก็เป็นอีกข้อหนึ่งในการที่จะสนับสนุนเหตุผลว่าภายในเอ็มบริโอมี free radicals เกิดขึ้นจริงและน่าจะมีผลต่อการเจริญของเอ็มบริโอด้วย โดยเขาพบว่าปัจจัยหลายอย่างที่กระตุ้นการเกิด free radicals ได้ เช่น แสง, ปริมาณ  $\text{O}_2$  20% และ phenol red นอกจากนี้ glucose และ phosphate ในน้ำยาเพาะเลี้ยงก็ทำให้เกิด  $\text{H}_2\text{O}_2$  ได้ เพราะจากการหาปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  ในน้ำยาที่ใช้เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ เมื่อได้รับปัจจัยดังกล่าวพบว่า มีปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  สูงในระดับหนึ่ง

และได้เสนอแนะว่าลักษณะการเข้าไปทำลายเซลล์มีหลายรูปแบบและจะแตกต่างกันตามแหล่งที่เกิดชนิดและความเข้มข้นของ free radicals

ส่วนในแฮมสเตอร์ก็มีการศึกษาเช่นกันโดย Schini และคณะ (1988) เติมกรดอะมิโน taurine เข้มข้น 1.0 mM ลงในน้ำยาเพาะเลี้ยงแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์ไปเป็นระยะ 8-เซลล์ แต่จากหลักฐานเท่าที่มีพบว่ายังไม่มีนักวิจัยท่านใดยืนยันว่า taurine จำเป็นต่อการเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอระยะต้นจริงแต่ที่มีการเติมลงไปในการเพาะเลี้ยง เป็นเพราะจากรายงานการศึกษาเบื้องต้นพบว่า taurine สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของไข่แฮมสเตอร์ภายนอกร่างกาย ทำให้มีการสันนิษฐานว่า taurine อาจส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอด้วย และในปี 1992 Barnett และคณะ พบว่ากรดอะมิโน hypotaurine ที่ความเข้มข้น 0.1 mM ส่งเสริมการเจริญของแฮมสเตอร์เอ็มบริโอที่เกิดจากการปฏิสนธิภายนอกร่างกายให้เจริญไปเป็นมอรูลาและบลาสโตซิสต์ 14 % ซึ่งมากกว่าที่ความเข้มข้น 0.1 mM (11 %) อาจเป็นไปได้ว่าเอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์มีโอกาสเกิด free oxygen radicals ได้มาก เพราะจากที่กล่าวในตอนต้นว่าในกระบวนการถอดรหัส mRNA ของมันนั้น ก่อให้เกิด free oxygen radical ได้ส่วนหนึ่ง ดังนั้น taurine 0.1 mM อาจไม่เพียงพอที่จะไปลดความเป็นพิษที่เกิดขึ้น แต่เมื่อเติม hypotaurine ลงไปถึง 10 mM กลับพบว่าการเจริญลดลง ซึ่ง Barnett และคณะ (1991) ได้เสนอความน่าจะเป็นไปได้ว่า hypotaurine ที่เติมลงไปถึง 10 mM อาจไปมีผลต่อ osmolarity ของน้ำยาเพาะเลี้ยงก็เป็นได้ ประกอบกับเอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์โตสที่วไปแล้วเป็นช่วงการเจริญที่ค่อนข้างจะไวต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอยู่แล้ว และจากที่ยอมรับเพิ่มเติมพบว่าที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด (1.0 mM) การเจริญไปถึงมอรูลาและบลาสโตซิสต์ของเอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์ ก็ยังต่ำมาก ซึ่งก็อาจจะเป็นไปได้ว่า hypotaurine ที่เติมลงไปตั้งแต่เริ่มการเพาะเลี้ยงไม่สามารถช่วยการเจริญหลังระยะ 8-เซลล์ ซึ่งถ้าหากพิจารณาผลการทดลองในครั้งนี้ด้วย อาจกล่าวได้ว่าหลังระยะ 8-เซลล์ไปแล้ว การเติม hypotaurine เพิ่มลงไปอีก อาจส่งเสริมการเจริญจากระยะ 2-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซิสต์ได้เช่นกันก็เป็นได้

นอกจากรายงานการศึกษาถึงบทบาทของ taurine และ hypotaurine จะเกี่ยวกับการกำจัด free radicals ในสเปิร์มและเอ็มบริโอของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมหลายชนิด นักวิจัยหลายท่านที่ศึกษาเรื่องดังกล่าวยังได้เสนออีกว่า taurine อาจไปยับยั้งปฏิกิริยา peroxidation หรืออาจไปช่วยซ่อมแซมเซลล์ภายหลังเกิดความเสียหายกับเซลล์แล้วก็เป็นได้ Domoulin และคณะ (1992) ทำการทดลองพบว่า taurine สามารถส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอหนูเม้าส์จากระยะ 1-เซลล์ไปเป็นบลาสโตซิส เขาให้คำอธิบายว่า taurine ปลอดภัยของ enzyme  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPase}$  ช่วยรักษา permeability ของเมมเบรน โดยเฉพาะ  $\text{K}^+$  ไม่ให้ไปเพิ่มภายในเซลล์จนถึงระดับที่เป็นอันตรายได้

ส่วนในเรื่องของความสามารถของ taurine และ hypotaurine ในการส่งเสริมการเจริญพบว่า จะให้ผลการเจริญที่ต่างกันคือ taurine ส่งเสริมการเจริญได้ดีกว่า hypotaurine ทั้งนี้ถ้าอาศัยข้อมูลจากบทบาทของ taurine และ hypotaurine ต่อการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของ sperm (Alvarez and Storey, 1983) จะพบว่ากรณีที่ taurine มีผลดีกว่า hypotaurine ที่เห็นได้ชัดเจนภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชม. ว่าอาจเป็นไปได้ที่ taurine สามารถกำจัด free radicals ได้มากกว่า เพราะยิ่งเพาะเลี้ยงนานโอกาสที่จะเกิด free radicals ชนิดต่าง ๆ ก็มาก ซึ่งก็สอดคล้องกับคำอธิบายข้างต้นว่าการเกิด free radicals จะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่หรือนอกจากนี้ taurine อาจจะไปกำจัด free radicals ได้ในตำแหน่งมากกว่า hypotaurine หรือ taurine อาจจะมีคุณสมบัติเฉพาะตัวในการกำจัดสูงกว่า ส่วนถ้าเติม taurine รวมกับ hypotaurine จะให้ผลที่อยู่ระหว่างผลของ taurine และ hypotaurine คือมีแนวโน้มว่าจะดีกว่า hypotaurine แต่น้อยกว่า taurine นั้น อาจจะเป็นไปได้ว่า hypotaurine แอ่งจับ receptor ของ taurine ไปบางส่วน ทำให้บทบาทของ taurine ลดลงและแสดงผลออกมาในลักษณะที่ก้ำกึ่งระหว่าง taurine กับ hypotaurine แต่เมื่อพิจารณาถึงจำนวนพืชที่ตาย จะพบความแตกต่างคือ taurine + hypotaurine ให้ผลการอยู่รอดหลังการถ่ายฝากดีกว่า hypotaurine อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าหลังจากการถ่ายฝากเข้าสู่หลอดตัวรับแล้ว ในหลอดอาจจะมี factor บางชนิดที่สามารถกระตุ้นให้ taurine ซึ่งอาจสะสมอยู่ในเซลล์ให้ทำงานดีขึ้นก็เป็นได้ Reed และคณะ (1992) ยังได้เพิ่มเติม



แนวคิดอีกว่า taurine อาจมีผลต่อขั้นตอนการเจริญในระยะต่าง ๆ ของเอ็มบริโอโดยตรงก็ได้

นอกจากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ taurine และ hypotaurine ที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังพบรายงานการศึกษาบางฉบับที่อาจจะช่วยสนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้ได้ โดยเฉพาะ taurine เช่น จากการศึกษาที่เอ็มบริโอสามารถเจริญจนถึงระยะที่เป็นบลาสโตซิสต์ได้ในท่อนำไข่ที่นำมาเลี้ยงนอกร่างกาย (Yodyingyud ,1982) หรือเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับ epithelial cells ของท่อนำไข่หรือมดลูก (Watson et al.,1994) ทำให้นักวิจัยเสนอว่า epithelial cells น่าจะหลั่งสารบางชนิดที่จำเป็นและเป็นต่อการเจริญของเอ็มบริโอ ซึ่ง Kane และคณะ (1992) เคยกล่าวไว้ว่า taurine เป็นชนิดหนึ่งของสารเหล่านี้และผลการทดลองของ Watson และคณะ (1994) ที่พบปริมาณ free radicals อาจเกิดจาก taurine ที่หลั่งออกมาจาก epithelial cells ก็ได้

ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่สามารถนำจำนวนลูกที่คลอดมาแปลผลการทดลองได้ เพราะโดยธรรมชาติ แอสเตอร์เป็นสัตว์ที่หวงลูก ในระยะที่คลอดลูกใหม่ ๆ ถ้าถูกรบกวนหรือได้รับความตกใจ จะหนีหรือซ่อนลูก ซึ่งในสภาพที่ถูกเลี้ยงอยู่ในกรง แอสเตอร์จะซ่อนลูกด้วยการอมไว้ในปากทำให้ลูกตาย แล้วคุณแม่แอสเตอร์ก็ทำลายซากไป ทำให้ไม่สามารถได้ข้อมูลที่เป็นจริงได้

จากการทดลองในครั้งนี้ มีข้อมูลบางเรื่องที่ไม่ได้แสดงลงในตาราง ซึ่งได้มาจากการทดลองในช่วงหนึ่งที่เกิดไฟฟ้าดับ อุณหภูมิภายในตู้เพาะเลี้ยงลดต่ำถึง  $35.6^{\circ}\text{C}$  พบว่าในกลุ่มที่เติม taurine ในน้ำเพาะเลี้ยง HECM-2 สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้หลังการเพาะเลี้ยง 24 ช.ม. ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงใน HECM-2 จะดีเจเนอเรทเกือบทั้งหมด ซึ่งก็เป็นจุดที่น่าสนใจว่าถ้าในสภาพของการเพาะเลี้ยงที่ไม่เหมาะสมมาก ๆ taurine และ hypotaurine จะช่วยให้เอ็มบริโอมีชีวิตอยู่รอดได้มากขึ้นอีกเพียงใด

จากการศึกษาในครั้งนี้อาจสรุปได้ว่า taurine และ hypotaurine มีผลส่งเสริมการเจริญของเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์และมีผลต่อการอยู่รอดของเอ็มบริโอ หลังจากการเพาะเลี้ยง

เป็นระยะเวลาานาน ๆ ตลอดจนความอยู่รอดหลังการถ่ายฝาก ข้อมูลที่ได้นี้อาจเป็นประโยชน์โดยนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการแก้ไขปัญหาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมชนิดอื่น ๆ ที่ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในขณะนั้นซึ่งอาจเป็นสัตว์เศรษฐกิจหรือสัตว์ที่กำลังสูญพันธุ์ไปและรวมถึงในคนด้วย ให้สามารถทำการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในอกร่างกายสัตว์อื่น