การศึกษาการกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมแบบการสอดท่อเข้า
ตัวมดลูกในแม่สุกร

นายพีระพงษ์ สำราญทรัพย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547
ISBN 974-17-6652-1
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A STUDY ON SPERM DISTRIBUTION AFTER INTRAUTERINE INSEMINATION IN SOWS

Mr. Peerapong Sumransap

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Theriogenology
Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2004

ISBN 974-17-6652-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูกในแม่สุกร
โดย	นายพีระพงษ์ สำราญทรัพย์
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มงคล เตชะกำพุ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. วิชัย ทันตศุภรักษ์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ศรีสุวรรณ ชมชัย)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ : การศึกษาการกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูกในแม่สุกร (A STUDY ON SPERM DISTRIBUTION AFTER INTRAUTERINE INSEMINATION IN SOWS) อ. ที่ปรึกษา : ศ. น.สพ. ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. น.สพ. ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์, 35 หน้า ISBN 974-17-6652-1

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจนับจำนวนตัวอสุจิที่อยู่ในส่วนต่างๆของท่อนำไข่ และปีกมดลูกภายหลังการผสมเทียมด้วยวิธีการสอดท่อเข้าตัวมดลูก (intrauterine insemination, IUI) เปรียบเทียบกับการผสมเทียมโดยการสอดท่อเข้าบริเวณคอมดลูกแบบปกติ (conventional artificial insemination, AI) แม่สุกรพันธุ์ผสม แลนด์เรซxยอร์กเชียร์ จำนวน 12 ตัว ถูกใช้ในการทดลอง แม่สุกรได้รับการตรวจการเป็นสัดทุก 6 ชั่วโมงและตรวจการตกไข่ด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ชนิดเรียลไทม์ บี โมด ทุก 4 ชั่วโมง แม่สุกรทุกตัวได้รับการผสมเทียม 1 ครั้งโดยใช้พ่อสุกรตัวเดียวกันในรอบที่ 2 ของการเป็นสัดหลังหย่านม ก่อนเวลาที่คาดว่าจะตกไข่ประมาณ 6-8 ชั่วโมง แม่สุกรถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 (6 ตัว) ได้รับการผสมเทียมแบบปกติ ด้วยน้ำเชื้อ 1 โด๊ส ที่มีจำนวนอสุจิ 3 พันล้านตัว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 2 (6 ตัว) ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกโดยใช้น้ำเชื้อ ที่มีจำนวนตัวอสุจิ 1 พันล้านตัว ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง แม่สุกรได้รับการผ่าตัดเพื่อนำรังไข่ ท่อนำไข่ และปีกมดลูก ออกมาและแบ่งเป็นส่วนต่างๆ 7 ส่วน ได้แก่ ปีกมดลูกส่วนปลาย ส่วนกลางและส่วนต้น ยูทีเจ อิสมัสส่วนปลายและส่วนต้น และแอมพูล่า นำทุกส่วนไปชะล้างด้วยสารละลายบีทีเอสและนับจำนวนตัวอสุจิ ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ จากการทดลองพบว่าสุกรในกลุ่มที่ 1 และ 2 พบตัวอสุจิในทั้ง 2 ด้านของมดลูกและท่อนำไข่ในจำนวนที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนยูทีเจ และอิสทมัสส่วนล่าง ของแม่สุกรในกลุ่มที่ 1 และ 2 เท่ากับ 142,500; 131,167; 1,411 และ 1,280 ตามลำดับ สัดส่วนของจำนวนตัวอสุจิที่พบในแต่ละส่วนของปีกมดลูกและท่อนำไข่ของกลุ่มที่ 1 และ 2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2547	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4575560031: MAJOR THERIOGENOLOGY

KEY WORD : SOW / INTRAUTERINE INSEMINATION / SPERMATOZOA

PEERAPONG SUMRANSAP : A STUDY ON SPERM DISTRIBUTION AFTER INTRAUTERINE INSEMINATION. THESIS ADVISOR: PROF. ANNOP KUNAVONGKRIT, Ph.D, THESIS COADVISOR: ASSIST. PROF. PADET TUMMARUK, Ph.D, 35 pp.

ISBN 974-17-6652-1.

The objective of the present study was to determine the number of spermatozoa obtained from the different part of the oviduct and uterine horn after intrauterine insemination (IUI) compared with conventional artificial insemination (AI). Twelve crossbred (Landrace x Yorkshire) multiparous sows were used in this study. All sows were examined for estrus every 6 h using back pressure test with the boar and were detected for the ovulation time using transrectal real time B-mode ultrasound. An artificial insemination was carried out using one boar at 8-10 h before the expected ovulation during the second estrus. The sows were divided in two groups, group I (n=6) was inseminated with conventional artificial insemination method with 3×10^9 spermatozoa in 100 ml extended semen and group II (n=6) was inseminated with intrauterine insemination technique with 1×10^9 spermatozoa in 50 ml extended semen. Twenty four hours after insemination, all sows were ovario-hysterectomized, oviducts and uterine horns were removed and divided into different seven parts as cranial, middle and caudal uterine horn, UTJ, cranial and caudal isthmus and ampulla. All parts were flushed and determined the number of spermatozoa by using haemocytometer. The results showed that there were not significant difference in the number of spermatozoa in both side of oviducts and uterine horns of group I and II ($p>0.05$). The numbers of flushed spermatozoa in UTJ and caudal isthmus for group I and II were 142,500; 131,167; 1,411 and 1,280, respectively. The proportion of sperm in all parts between group I and group II were not significantly different ($p>0.05$).

Department Obstertics Gynaecology and Reproduction	Student's signature ……..…..……
Field of Theriogenology	Advisor's signature ……..……
Academic year 2004	Coadvisor's signature …..……

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยการช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาและแนะนำ รวมทั้งตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดระยะเวลาที่ทำวิทยานิพนธ์ จากศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ ทุกๆ ท่านที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณนางสาวทัศนีย์ ทองอยู่ นายสืบวงศ์ สุขสุดประเสริฐ และนายวีรสิฐ บุญเต็งชาญ นิสิตชั้นปีที่ 5 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำศัลยกรรมสุกร ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนในการวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย และศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นอกจากนี้ยังได้การสนับสนุนวัสดุและอุปกรณ์การผสมเทียม ในการศึกษาครั้งนี้จาก บริษัท ฟิลลิปส์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....จ
กิตติกรรมประกาศ .....ฉ
สารบัญ .....ช
สารบัญตาราง .....ฌ
สารบัญภาพ .....ญ

บทที่

1. บทนำ 1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
กายวิภาคศาสตร์และสรีระวิทยาของระบบสืบพันธุ์ในสุกรเพศเมีย 3
การผสมเทียมในสุกร.....4
การกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียม 5
การไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อและการถูกจับกินของตัวอสุจิโดยเม็ดเลือดขาว 7
การตรวจการตกไข่ด้วยเครื่องอัลตร้าซาวด์ 8
การศึกษาการตรวจนับการกระจายของตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์ 9

3. วิธีดำเนินการวิจัย 10
สถานที่ทำการศึกษา.....10
สัตว์ทดลอง 10
วิธีการคัดเลือกและแบ่งกลุ่มตัวอย่าง 10
การตรวจการเป็นสัดและตรวจการตกไข่ 10
การรีดเก็บน้ำเชื้อและการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียม 11
การผสมเทียม 11

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

วิธีการผ่าตัดและชะล้างและการตรวจนับตัวอสุจิ 13
เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย 14
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....14

4. ผลการศึกษา.....16
ลักษณะการเป็นสัดและระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ 16
ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์และจำนวนคอร์โปร่า ลูเตีย 16
การกระจายของตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ด้านซ้ายและขวา 17
การกระจายของตัวอสุจิทั้งหมดในอวัยวะสืบพันธุ์ 18

5. อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 19
การตรวจการเป็นสัดและการตกไข่ในแม่สุกร.....19
อัตราการตกไข่ในรอบที่ 1 และ 2 หลังหย่านมในแม่สุกร 19
ผลของคุณภาพน้ำเชื้อต่อการขนส่งตัวอสุจิและการไหลย้อนกลับ.....19
ผลของเทคนิคการใช้ท่อผสมเทียมแบบ IUI ต่อแม่สุกร.....20
การไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อหลังการผสมเทียม 20
การสูญเสียของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียม 20
การกระจายของตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ทั้ง 2 ข้างหลังการผสมเทียม 21
ผลกระทบที่เกิดจากการลดปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำเชื้อ 21
ปริมาณตัวอสุจิที่พบในท่อนำไข่หลังการผสมเทียมด้วยวิธี AI และ IUI.....22
สรุปผลการวิจัย 22
ข้อเสนอแนะ 23

รายการอ้างอิง 24

ภาคผนวก 29

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 35

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของลำดับครอก ระยะหย่านมถึงเป็นสัด ระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ และระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่งของแม่สุกร 16

2 ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความยาวท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์และจำนวนคอร์โปร่า ลูเตีย (CL) ในแม่สุกร 17

3 ค่าเฉลี่ย (mean) ของจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมตามปกติและแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก 17

4 ค่าเฉลี่ย (mean) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกร ภายหลังการผสมเทียม 18

5 สัดส่วน (proportion) ของจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกรต่อจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบ ภายหลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง 18

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

รูปที่ หน้า

1 ท่อผสมเทียมชนิดสอดเข้าคอมดลูก (Coventional AI; Goldenpig) (A) และท่อผสมเทียมชนิดสอดเข้าคอมดลูก (intrauterine insemination; Deepgoldenpig) (B)……..…12

2 อวัยวะสืบพันธุ์แม่สุกรและตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อขณะทำการผสมเทียมโดยเทคนิคการผสมเทียมแบบปกติ (A) และการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก (B) …..13

3 การแบ่งส่วนต่างๆ ของปีกมดลูกและท่อนำไข่ ……..…...14

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การผสมเทียม (Artificial Insemination, AI) เป็นเทคโนโลยีชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อการจัดการฟาร์มสุกร การผสมพันธุ์สุกรด้วยวิธีการผสมเทียม สามารถลดต้นทุนในการจัดหาพ่อพันธุ์และลดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ โดยสามารถลดจำนวนพ่อพันธุ์ได้ลงได้ถึง 4-5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีผสมพันธุ์แบบธรรมชาติ ลดค่าใช้จ่ายด้านอาหารและลดคอกพ่อสุกรลง ทำให้สามารถเพิ่มคอกแม่สุกรได้มากขึ้น นอกจากนี้การผสมเทียมยังสามารถลดขั้นตอนในการผสมพันธุ์ ลดระยะเวลาและแรงงาน ที่จะใช้ในการผสมพันธุ์สุกร (Flowers and Alhusen, 1992) สามารถใช้ประโยชน์จากพ่อพันธุ์ได้สูงสุด เนื่องจากขจัดปัญหาเรื่องน้ำหนักและขนาดของพ่อสุกรที่มีผลต่อการผสมพันธุ์ และอาจลดความเสี่ยงในการติดโรคทางระบบสืบพันธุ์

ในการทำการผสมเทียมสุกร นอกจากคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแล้ว อุปกรณ์และวิธีการในการผสมเทียมก็เป็นอีกปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตเช่นเดียวกัน การผสมเทียมสุกรในปัจจุบันน้ำเชื้อจะถูกปล่อยบริเวณคอมดลูกโดยใช้น้ำเชื้อปริมาตร 80-100 มิลลิลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิต 2-3 พันล้านตัว จากการศึกษาพบว่ามากกว่า 90 % ของอสุจิเกิดการสูญเสียก่อนที่จะเข้าถึงบริเวณที่มีการปฏิสนธิภายในท่อนำไข่ ทั้งจากการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ (Steverink et al., 1998) และจากกระบวนการเก็บกินจากเม็ดเลือดขาวที่เข้ามาภายในมดลูก (Mburu et al., 1996) ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ ตลอดจนวิธีการในการผสมเทียมเพื่อให้มีการใช้งานที่สะดวกและมีประสิทธิภาพมากขึ้น อุปกรณ์ผสมเทียมที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมาชนิดหนึ่ง ได้แก่ ท่อผสมเทียมชนิดสอดท่อเข้าตัวมดลูก (intrauterine catheter) ซึ่งเป็นท่อที่ใช้ในการผสมเทียม โดยจะปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูกของสุกร สามารถลดความเข้มข้นของตัวอสุจิ และปริมาตรของน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียมลงได้ รวมทั้งช่วยลดอัตราการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ (Watson and Behan, 2002) อย่างไรก็ดียังไม่มีรายงานการกระจายตัวของตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์ของสุกรเพศเมียภายหลังการผสมเทียมด้วยวิธีนี้

ในประเทศไทยการเจือจางน้ำเชื้อสดเพื่อใช้ในการผสมเทียมสุกร มักไม่ค่อยได้มาตรฐานและมีจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดต่อโด๊สมากเกินความจำเป็น ทำให้การใช้น้ำเชื้อสิ้นเปลืองและไม่ได้ประโยชน์สูงสุด อีกทั้งการผสมเทียมในฟาร์ม ถ้าผู้ผสมเทียมทำการผสมเทียมโดยเทคนิควิธีที่ไม่ถูกต้อง อาจมีโอกาสทำให้เกิดการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อภายหลังการผสมมาก ซึ่งอาจจะมีผลต่ออัตราการผสมติดและขนาดของครอก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าภายใน 1 ชั่วโมงหลังการผสม

เทียมจะมีการสูญเสียจำนวนตัวอสุจิมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Baker et al., 1968) นอกจากนี้ หลังการผสมเทียม 1 – 2 ชั่วโมง First และคณะ (1968) และ Viring (1980) พบว่าจะตรวจพบจำนวนตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์เพียง 5 – 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ปัจจัยที่ทำให้ตัวอสุจิสามารถมีชีวิตอยู่ในท่อทางเดินสืบพันธุ์ได้นานยังขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่ใช้ในการการผสม รวมทั้งปริมาณของน้ำเลี้ยงเชื้อ (seminal plasma) (Rozeboom, 2001) อย่างไรก็ตามจากการพัฒนาด้านเทคนิคการผสมเทียม Watson และ Behan (2002) ประสบความสำเร็จในการผสมเทียมโดยปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปในตัวมดลูกของแม่สุกร (body of uterus) โดยใช้ท่อผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกเป็นอุปกรณ์ในการผสมเทียม (Intrauterine insemination, IUI) และพบว่าสามารถที่จะลดจำนวนตัวอสุจิลงเหลือ 1 พันล้านตัวต่อโด๊ส โดยที่ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการผสมติด และจากรายงานของ Rath (2002) พบว่าการผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก สามารถลดการสูญเสียน้ำเชื้อ จากการไหลย้อนกลับลงได้เมื่อเทียบกับการผสมเทียมตามปกติ

ในการผสมเทียม ความเข้มข้นหรือปริมาตรของน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสม และตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ มีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์และประสิทธิภาพในการผสมเทียม โดยจำนวนตัวอสุจิที่พบหรือที่เข้าไปในท่อนำไข่ได้ มีความสำคัญต่อการอัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอก (Flowers, 2002) ถ้าการผสมเทียมโดยปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก (IUI) โดยลดจำนวนตัวอสุจิต่อโด๊ส และลดปริมาตรที่ใช้ในการผสมเทียมลง แต่ทำให้มีปริมาณตัวอสุจิอยู่ในระบบสืบพันธุ์สุกรใกล้เคียงกับการผสมเทียมตามปกติ อีกทั้งยังสามารถลดจำนวนการใช้พ่อพันธุ์สุกรลง ลดจำนวนของน้ำเชื้อที่ค้างอยู่ในมดลูกโดยไม่ได้รับการปฏิสนธิได้มากขึ้น (มากกว่าหรือเท่ากับ 2,000 ล้านตัวต่อการผสม 1 ครั้ง) ซึ่งอาจลดโอกาสการเกิดมดลูกอักเสบได้ ลดการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อขณะผสม ซึ่งมีผลต่ออัตราการผสมติด (Steverink et al., 1998) ดังนั้นการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก จึงน่าจะเป็นทางเลือกสำหรับวิธีการผสมเทียมสุกรแบบใหม่ เพื่อพัฒนาคุณภาพการการผสมเทียมสุกรให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคการผสมเทียมโดยปล่อยน้ำเชื้อที่คอมดลูกแบบปกติ (AI) และแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก (IUI) โดยเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิที่พบในปีกมดลูกและท่อนำไข่ภายหลังการผสมเทียมทั้งสองแบบ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ในสุกรเพศเมีย

ระบบสืบพันธุ์สุกรเพศเมีย ประกอบด้วยอวัยวะสืบพันธุ์ ได้แก่ รังไข่ (ovary) ท่อนำไข่ (oviduct) มดลูก (uterus) ซึ่งประกอบด้วย ปีกมดลูก (horn of uterus) ตัวมดลูก (body of uterus) คอมดลูก (cervix) ช่องคลอด (vagina) และปากช่องคลอด (vulva)

รังไข่สุกรมีลักษณะกลม คล้ายพวงองุ่น ขนาดและลักษณะเปลี่ยนแปลงได้ตามวงรอบการเป็นสัด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2-4 เซนติเมตร และหนักประมาณ 3-7 กรัม (อรรณพ, 2545) มีหน้าที่ในการผลิตไข่ สร้างฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรน ในการเป็นสัดครั้งหนึ่งจะมีการตกไข่ครั้งละหลายๆ ใบประมาณ 10-25 ใบ ท่อนำไข่มีความยาวประมาณ 15-30 เซนติเมตร ส่วนปลายมีลักษณะบานเป็นปากแตร (fimbria) ท่อนำไข่สามารถยืดหดได้มากมีหน้าที่ขนส่งตัวอสุจิก่อนการปฏิสนธิจะเกิดขึ้น โดยตัวอสุจิจะมารวมตัวในระยะหนึ่ง ก่อนเคลื่อนที่ออกจากที่กักเก็บตัวอสุจิที่เรียกว่า “sperm reservoir” นอกจากนั้นยังทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการคาปาซิเตต่น (sperm capacitation) การเคลื่อนที่ของโอโอไซต์หลังการตกไข่ และการเตรียมความพร้อมในการปฏิสนธิของโอโอไซต์ (oocyte transport and maturation) และเป็นบริเวณที่นำอสุจิให้มาพบกับโอโอไซต์จนเกิดการเกิดการปฏิสนธิ (fertilisation) และยังช่วยพัฒนาการเจริญของไซโกต (Hunter, 1991; Rodiguez-Martinez et al., 2001) ท่อนำไข่สามารถแบ่งออกเป็นส่วนๆ ได้แก่ ส่วนต่อระหว่างท่อนำไข่และมดลูก (utero-tubal junction, UTJ) ส่วนอิสทมัส (isthmus) มีลักษณะเป็นท่อแคบๆ และมีชั้นกล้ามเนื้อที่หนา และท่อนำไข่ส่วนแอมพูล่า (ampulla) มีลักษณะเป็นท่อที่กว้างกว่าส่วนอิสทมัส แต่มีชั้นกล้ามเนื้อที่บางกว่า โดยรอยต่อระหว่างส่วนแอมพูล่าและอิสทมัส จะเรียกว่า “ampullary isthmic junction (AIJ)” โดยเป็นตำแหน่งที่จะเกิดการปฏิสนธิ และส่วนปลายของท่อนำไข่จะมีลักษณะกว้างและขยายออก เรียกว่า “infundibulum” ซึ่งจะมี fimbria ไปปกคลุมรังไข่และยื่นเข้าไปในช่องท้อง ทำหน้าที่เก็บรับโอโอไซต์ มดลูกประกอบด้วยตัวมดลูกปกติยาวประมาณ 5 เซนติเมตร และปีกมดลูกยาวประมาณ 1.0-1.5 เมตร ปีกมดลูกมีหน้าที่เป็นที่ฝังตัวของตัวอ่อนและควบคุมการตั้งท้อง คอมดลูกเป็นส่วนที่ต่อจากตัวมดลูกมีความยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร มีลักษณะเป็นผนังค่อนข้างหนา มีหน้าที่ป้องกันเชื้อโรคไม่ให้เข้าไปในมดลูก เป็นจุดปล่อยน้ำเชื้อในการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ รวมทั้งป้องกันไม่ให้เกิดการไหลกลับของน้ำเชื้อภายหลังการผสมอีกด้วย ช่องคลอดเป็นท่อยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ประกอบด้วยกล้ามเนื้อหนา ผนังด้านในเป็นเยื่อบุเมือก เป็นอวัยวะที่ใช้ในการผสมพันธุ์ และเป็นทางออกของลูกสัตว์เมื่อคลอด ปากช่องคลอด

เป็นส่วนต่อจากช่องคลอดยาวประมาณ 7-8 เซนติเมตร มีต่อมขับน้ำหล่อลื่น ซึ่งจะมีการทำงานมากในช่วงสุกรเป็นสัด นอกจากนี้ยังประกอบด้วยส่วนที่เป็นแคม (labia) และปุ่มคลิตอริส (clitoris) ปากช่องคลอดมีหน้าที่เป็นทางเปิดของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย

สุกรเริ่มเป็นสัดเมื่ออายุ 6-7 เดือน มีวงจรการเป็นสัดแต่ละรอบประมาณ 18-23 วัน เฉลี่ย 21 วัน เวลาที่แสดงการเป็นสัดโดยเฉลี่ยประมาณ 60 ชั่วโมง ส่วนการตกไข่เกิดขึ้นที่เวลาโดยเฉลี่ย 34-40 ชั่วโมงหลังจากแม่สุกรเริ่มยืนนิ่ง แม่สุกรจะมีการตกไข่ประมาณ 15-25 ใบ เฉลี่ย 21.4 ใบ (Hughes and Hemsworth, 1994)

การผสมเทียมในสุกร

การผสมเทียมสุกรในปัจจุบันที่นิยมปฏิบัติกัน เป็นเทคนิคการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าที่บริเวณคอมดลูก (cervix) โดยการสอดท่อผ่านช่องคลอด (vagina) และให้ปลายท่อผสมเทียมเข้าไปล็อคบริเวณคอมดลูก น้ำเชื้อที่ใช้ผสมเป็นน้ำเชื้อเจือจาง มีจำนวนของตัวอสุจิมีชีวิตระหว่าง 2 - 5 พันล้านตัวต่อโด๊ส ในปริมาตร 80 – 100 มิลลิลิตร โดยให้ประสิทธิภาพการผลิตที่ดี คือ มีอัตราการการเข้าคลอด 85 – 90 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนลูกสุกรมีชีวิตแรกคลอดต่อครอก 9.9 – 11.3 ตัว (Tummaruk et al., 2004a,b) การผสมเทียมสุกรของฟาร์มเกษตรกรในปัจจุบันจะเป็นลักษณะของการรีดเก็บน้ำเชื้อและผลิตน้ำเชื้อเอง หรือการไปซื้อน้ำเชื้อฟาร์มสุกรพันธุ์ขนาดใหญ่ ฟาร์มของบริษัทเอกชน หรือศูนย์ผลิตน้ำเชื้อ มาทำการผสมเทียภายในฟาร์มด้วยตัวเอง (ปาริฉัตร 2544)

ถึงแม้ว่าการผสมเทียมสุกรในปัจจุบัน จะแนะนำให้ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อสดที่มีจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิต 3 พันล้านตัว แต่ในทางปฏิบัติผู้ทำการผสมเทียมมักจะใช้ความเข้มข้นต่อโด๊ส ในการผสมเทียมที่ค่อนข้างสูงกว่า 3 พันล้านตัว ซึ่งเป็นการสูญเสียและใช้ประโยชน์พ่อพันธุ์สุกรไม่ได้เต็มประสิทธิภาพ การที่จะทำให้อัตราการเข้าคลอดหรือจำนวนลูกต่อครอกสูงนั้น จะต้องมีจำนวนตัวอสุจิที่มากพอเพียงเข้าไปในท่อนำไข่ เพื่อรอที่จะผสมกับไข่ที่จะตกลงมาจากรังไข่ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากการผสมเทียม อสุจิต้องเคลื่อนที่ผ่านส่วนคอมดลูก ตัวมดลูก ปีกมดลูก และเข้าไปยังท่อนำไข่ส่วนแอมพูล่า ซึ่งรวมความยาวของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ที่ตัวอสุจิจะต้องเคลื่อนผ่านเป็นระยะทางประมาณ 1.5 เมตรในแม่สุกร จากการศึกษาพบว่าตัวอสุจิประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ไหลย้อนกลับออกมาภายหลังการผสมเทียมภายในเวลาไม่เกิน 2.5 ชั่วโมง (Steverink et al., 1998) ตัวอสุจิที่เหลือก็จะผ่านคอมดลูก ซึ่งมีลักษณะเป็นหลืบ เข้าไปในมดลูก และเมื่อตัวอสุจิเข้าไปอยู่ภายในมดลูกแล้วจะเกิดการสูญเสียเป็นจำนวนมาก เนื่องจากสภาพแวดล้อมภายในมดลูกไม่เหมาะสมต่อการมีชีวิตของตัวอสุจิ และมีการเข้ามาของเม็ดเลือดขาวจำนวนมาก รวมทั้งเซลล์อื่นๆ ของระบบภูมิคุ้มกันในช่วงที่สุกรอยู่ในระยะเป็นสัด (Kaeoket et al., 2002) โดยเม็ดเลือดขาวและ

เซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันจะทำหน้าที่เก็บกินสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในมดลูก ซึ่งตัวอสุจิก็จัดเป็นสิ่งแปลกปลอมเช่นเดียวกัน

มดลูกของสุกรประกอบด้วยตัวมดลูกซึ่งมีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร และปีกมดลูกสองข้างซึ่งจะมีความยาว 1-1.5 เมตร และมีลักษณะม้วนขดไปมา ตัวอสุจิจะมีการเคลื่อนไปโดยอาศัยการบีบตัวของมดลูก จนไปถึงส่วนปลายของท่อนำไข่ส่วนอิสทมัส (isthmus) ซึ่งมีสภาพที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิ และรออยู่บริเวณนี้จนกว่าจะเกิดการตกไข่ จึงจะเคลื่อนที่ไปยังบริเวณรอยต่อของท่อนำไข่ส่วนแอมพูล่ากับส่วนต้นของอิสทมัส (ampullatory isthmic junction, AIJ) ซึ่งเป็นบริเวณที่จะเกิดการปฏิสนธิ โดยที่ตัวอสุจิสามารถจะมีชีวิตอยู่ได้นานประมาณ 24 ชั่วโมง จำนวนตัวอสุจิที่จะเข้ามาถึงบริเวณนี้มีจำนวนน้อยมากเมื่อเทียบกับจำนวนตัวอสุจิที่ใช้ในการผสม ซึ่งเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนแล้วเกิดการสูญเสียตัวอสุจิเมื่อมาถึงบริเวณท่อนำไข่มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (Mburu et al., 1996)

Polge (1978) พบว่าการผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปที่ท่อนำไข่ สามารถลดจำนวนตัวอสุจิลงได้โดยที่ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการผสมติด Krueger และคณะ (1999) ผสมเทียมสุกรสาวโดยทำการผ่าตัดและปล่อยน้ำเชื้อที่ตำแหน่งบริเวณใกล้กับรอยต่อของปีกมดลูกกับท่อนำไข่ (uterotubal junction, UTJ) พบว่าน้ำเชื้อที่มีจำนวนตัวอสุจิ 10 ล้านตัวในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพียงพอเมื่อเทียบกับการผสมเทียมตามปกติ เช่นเดียวกันกับในสุกรนาง (Kruger and Rath, 2000) เทคนิคการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก ถูกพัฒนาขึ้นมา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมเทียม โดยที่ใช้น้ำเชื้อที่มีความเข้มและปริมาตรที่น้อยลง (Watson and Behan, 2002) ทำให้สามารถใช้พ่อพันธุ์สุกรได้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นอุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเทียมจะถูกสอดผ่านคอมดลูกเพื่อปล่อยน้ำเชื้อที่ในตัวมดลูก แต่วิธีการนี้ก็ยังอาจมีโอกาสเสี่ยงที่จะทำให้เกิดอันตรายต่อคอมดลูกและมดลูก หรือชักนำการติดเชื้อภายในมดลูกได้ง่ายขึ้น Watson และ Behan (2002) ศึกษาการใช้ท่อผสมเทียมแบบสอดเข้ามดลูก (IUI catheter) ในการผสมเทียมสุกร และปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปในส่วนตัวมดลูกโดยตรง และใช้ขนาดความเข้มข้นของน้ำเชื้อในการผสมเทียมคือ 3 พันล้าน 2 พันล้าน และ 1 พันล้านตัว โดยเปรียบเทียบกับวิธีผสมเทียมแบบเดิม โดยใช้จำนวนตัวอสุจิ 3 พันล้านตัวต่อโด๊ส พบว่าอัตราการเข้าคลอด และจำนวนลูกสุกรมีชีวิตต่อครอก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของของ Rozeboom และคณะ (2004)

การกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียม

ภายหลังการผสมเทียมตัวอสุจิจะมีการเคลื่อนที่จากตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ ไปยังบริเวณที่จะเกิดการปฏิสนธิ คือส่วนแอมพูล่าของท่อนำไข่ การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ของสุกรเพศเมียจะเกิดจากการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิเอง ร่วมกับการการบีบตัวของมดลูกและ

ท่อนำไข่ โดยมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องได้แก่ คุณภาพของน้ำเชื้อ ความเข้มข้นและปริมาตรของน้ำเชื้อ และระยะการเป็นสัด โดยเฉพาะก่อนและหลังการตกไข่ ลักษณะในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในสุกรจะมี 2 ลักษณะ คือ การเคลื่อนที่เร็ว (rapid transport) และการเคลื่อนที่ช้า (slow transport) ตัวอสุจิสามารถมีชีวิตอยู่ในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ได้ประมาณ 12 – 36 ชั่วโมง (Polge, 1978) ตัวอสุจิส่วนใหญ่มีชีวิตอยู่ได้โดยอาศัยน้ำเลี้ยงเชื้อ (seminal plasma) และสารละลายน้ำเชื้อที่ผสมกับน้ำเชื้อ ซึ่งจะมีทั้งน้ำตาล กรดอะมิโน เกลือ และยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ของเหลวและสภาพภายในของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ ก็มีส่วนต่อการมีชีวิตของตัวอสุจิ รวมทั้งยังมีส่วนในการช่วยให้เกิดการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิด้วย Willenburg และคณะ (2003) พบว่าการเพิ่มอ๊อกซีโตซิน (oxytocin) และ (prostaglandin) ในน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียมมีแนวโน้มที่จะพบจำนวนตัวอสุจิที่ปีกมดลูกส่วนต้นมากขึ้น เช่นเดียวกับ Maes และคณะ (2003) ซึ่งพบว่าการเพิ่มพรอสต้าแกลนดินลงในน้ำเชื้อทำให้ประสิทธิภาพการผสมเทียม ได้แก่ อัตราการเข้าคลอด และจำนวนลูกมีชีวิตต่อครอก เพิ่มขึ้น โดยเป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมมากขึ้น

การเคลื่อนที่เร็ว เป็นการเคลื่อนที่จากตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อภายในเวลาไม่กี่นาทีหลังการผสมพันธุ์ ตัวอสุจิจะมีการเคลื่อนที่ ผ่านปีกมดลูก ไปที่ท่อนำไข่ โดยตัวอสุจิที่ยังไม่เกิดกระบวนการคาปาซิเตชั่นจะยึดติดและมีปฏิกิริยากับเซลล์บุผิวของท่อนำไข่ ทำให้เกิดกระบวนการคาปาซิเตชั่นต่อมา (Fazeli et al., 1999) การเคลื่อนที่แบบนี้อาศัยการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูก ตัวอสุจิในกลุ่มนี้มีโอกาสที่จะเกิดการปฏิสนธิกับไข่ได้แต่ไม่มากนัก โดยตัวอสุจิในกลุ่มนี้มีลักษณะไม่ค่อยเคลื่อนไหว ผนังเซลล์ถูกทำลาย ตัวอสุจิที่ตายจะถูกขับออกไปในช่องท้อง Hunter (1984) พบว่าตัวอสุจิจะเข้าไปสู่ท่อนำไข่ได้ภายใน 15 – 30 นาที หลังผสมเทียม โดยอาศัยโดยการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกและท่อนำไข่ โดยต้องผ่านส่วนต่อของมดลูกและท่อนำไข่ ซึ่งเป็นส่วนป้องกันหรือกรองตัวอสุจิที่จะเข้าไปในท่อนำไข่ ส่วนการเคลื่อนที่ช้านั้นอาจเกิดควบคู่หรือเกิดในเวลาที่ใกล้เคียงกับการเคลื่อนที่เร็ว อาจเกิดภายในเวลาไม่กี่นาที จนถึงหลายชั่วโมงภายหลังผสม

ภายหลังการผสมเทียม ตัวอสุจิส่วนใหญ่จะมีการกระจายเข้าไปในมดลูก บางส่วนอาจมีกระจายย้อนกลับออกไปทางช่องคลอด ตัวอสุจิจะเข้าไปในมดลูกและท่อนำไข่มากขึ้นตามเวลาที่มากขึ้นภายหลังการผสม ตัวอสุจิส่วนใหญ่จะถูกเก็บอยู่บริเวณ UTJ และอิสทมัสมัสส่วนปลาย 1 – 2 เซนติเมตร ซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งกักเก็บตัวอสุจิ (sperm reservoir) โดยที่บริเวณนี้จะมีสภาพที่เหมาะต่อการเก็บกักตัวอสุจิ และควบคุมการปล่อยให้ตัวอสุจิที่เกิดการคาปาซิเตชั่นแล้ว ไปยังบริเวณที่จะเกิดการปฏิสนธิ ลักษณะของเยื่อบุที่มีร่องลึก ท่อนำไข่มีขนาดแคบลงจากปกติโดยอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจน (Hunter, 1984) มีของเหลวที่มีลักษณะเป็นเมือกข้น (Tienthai et al., 2004) โดยอสุจิที่อยู่ในบริวณนี้จะเคลื่อนที่ช้าลง และมีการจับกับเซลล์เยื่อบุของท่อนำไข่เพิ่มมากขึ้น ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดการเข้าปฏิสนธิของตัวอสุจิหลายตัว (polyspermic fertilization) โดยการ

ควบคุมจำนวนตัวอสุจิที่จะเข้าไปในท่อนำไข่เพื่อที่จะปฏิสนธิกับโอโอไซต์ และมีหน้าที่ในการรักษาสภาพความสมบูรณ์ของตัวอสุจิ จนกว่าจะเกิดการตกไข่ รวมทั้งควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของตัวอสุจิ โดยเฉพาะกระบวนการคาปาซิเตชั่น และการเกิดการเคลื่อนไหวแบบเร็ว (hyperactivation)

ตัวอสุจิจะเคลื่อนที่เข้าไปในท่อนำไข่ได้เร็วมากโดยเฉพาะในช่วงเวลาตกไข่ Hunter (1981) พบว่าจะต้องมีจำนวนตัวอสุจิที่เพียงพอที่จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการผสมพันธุ์ เข้าไปอยู่ในท่อนำไข่ภายใน 1 – 2 ชั่วโมงภายหลังการผสมเพื่อที่จะป้องกันตัวเองจากการถูกเก็บกินโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (polymorphonuclear leukocyte) ที่จะเข้ามาในมดลูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tienthai (2003) ที่พบว่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในท่อทางเดินสืบพันธุ์ของสุกร ตัวอสุจิจะมีการพักตัวที่บริเวณ รอยต่อของปีกมดลูกกับท่อนำไข่ และบริเวณที่ติดต่อกับส่วนอิสทมัส โดยที่ตัวอสุจิที่อยู่ที่บริเวณเหล่านี้จะยังมีสภาพปกติ และยังไม่เกิดการ คาปาซิเตชั่น ในช่วงที่เป็นสัด โดยเฉพาะก่อนและระหว่างที่เกิดการตกไข่

การไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อและการถูกจับกินโดยเม็ดเลือดขาว

จากการศึกษาของ Baker และ คณะ (1968) และ Viring และคณะ (1980) พบว่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิจะลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังได้รับการผสม และตัวอสุจิจำนวนมากจะถูกขจัดออกจากมดลูกภายในเวลา 2 – 3 ชั่วโมง โดยเกิดจากการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ (backflow) และกระบวนการเก็บกินโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (phagocytosis) Viring and Einarsson (1981) พบว่าภายใน 2 ชั่วโมงหลังการผสมเทียม ตัวอสุจิจำนวน 1ใน 3 จะถูกพบในน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับออกจากช่องคลอด ส่วนที่เหลือส่วนใหญ่จะเกิดการสลายตัวและบางส่วนจะถูกเม็ดเลือดขาวเก็บกิน และถูกดูดกลืนที่ผนังมดลูก ส่วน Peltoniemi และคณะ (2000) พบว่าประมาณ 80% ของจำนวนตัวอสุจิจะสูญเสียออกมาจากช่องคลอดของแม่สุกร 24 ชั่วโมงภายหลังการผสม

การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในท่อทางเดินสืบพันธุ์ จะถูกควบคุมโดยฮอร์โมนต่างๆหลายชนิดร่วมกัน ได้แก่ ฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งสร้างมาจากรังไข่ ที่มีหน้าที่ควบคุมการบีบตัวของมดลูกและท่อนำไข่ ฮอร์โมนออกซิโตซิน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่หลั่งจากต่อมใต้สมองส่วนหลัง โดยไปกระตุ้นให้เกิดการบีบตัวอย่างแรงของมดลูก และฮอร์โมนเอสโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ (Claus et al., 1987) ก็มีส่วนช่วยกระตุ้นการบีบตัวของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เช่นเดียวกัน ความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะแตกต่างกันในแต่ละช่วงของวงจรการเป็นสัด ช่วงก่อนเริ่มเป็นสัดมดลูกจะเริ่มมีการหดตัวมากขึ้น โดยมีความถี่ค่อนข้างสม่ำเสมอแต่ค่อนข้างแรง แต่ในช่วงที่เป็นสัดจะพบความแรงของการหดตัวของมดลูกมากที่สุด ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยการหดตัวมากที่สุดก็เป็นผลมาจากระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สูงสุดในช่วงเป็นสัดนั่นเอง

Rodriguez-Martinez และคณะ (1982) พบว่ามีการบีบตัวของท่อนำไข่ในทุกๆส่วนตลอดในช่วงระยะเป็นสัด โดยเป็นการบีบตัวแบบเพอริทอลติค ที่มีความถี่สม่ำเสมอแต่มีความแรงในการบีบตัวมาก ในวันที่ 1 เริ่มมีการบีบตัวแบบแอนติเพอริทอลติคมากขึ้น ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ในช่วงระหว่างตกไข่การบีบตัวแบบเพอริทอลติค และแบบแอนติเพอริทอลติคจะกลับมาเท่ากัน ซึ่งอาจจะมีบทบาทเกี่ยวข้องการเคลื่อนที่ของเซลล์สืบพันธุ์ไปยังบริเวณที่จะเกิดการปฏิสนธิ Viring and Einarsson (1981) พบว่าในช่วงเป็นสัดภายหลังจากการผสมตามธรรมชาติหรือได้รับการผสมเทียม ตัวอสุจิจะมีการสะสมอยู่ที่ คอมดลูก และตัวมดลูก และส่วนใหญ่จะมีการเคลื่อนที่ไปโดยอาศัยแรงจากการบีบตัวของมดลูก แต่ยังมีความแตกต่างกันระหว่างแม่สุกรแต่ละตัวในเรื่องความแรงของการหดตัวของมดลูก (Langendijk et al., 2002a) Langendijk และคณะ (2002b) พบว่าการเสริมฮอร์โมนเอสโตรเจนและพรอสต้าแกลนดินในน้ำเชื้อ กระตุ้นการหดตัวของมดลูกเพิ่มจำนวนของตัวอสุจิที่เข้าไปในท่อนำไข่ได้ และเพิ่มโอกาสที่จะเกิดการปฏิสนธิได้มากขึ้น

จากจำนวนตัวอสุจิเป็นหมื่นล้านตัวจากการผสมตามธรรมชาติ หรือพันล้านตัวจากวิธีการผสมเทียมแบบปกติ จะมีจำนวนตัวอสุจิเป็นจำนวนพันหรือจำนวนหมื่นเท่านั้นที่สามารถเข้าไปในท่อนำไข่ และจะมีจำนวนตัวอสุจิเพียงไม่กี่ร้อยตัวเท่านั้นที่จะเข้าไปในท่อนำไข่ส่วนแอมพูล่า ซึ่งเป็นบริเวณที่จะเกิดการปฏิสนธิ โดยอาศัยการทำหน้าที่ของ ส่วนต่อของปีกมดลูกและท่อนำไข่ และส่วนต่อของแอมพูล่าและอิสทมัส (AIJ) ซึ่งเป็นการป้องการเกิดการปฏิสนธิโดยตัวอสุจิหลายตัว (polyspermy) สภาพภายในมดลูกสามารภทำให้ตัวอสุจิเกิดกระบวนการคาปาซิเตชั่นได้ โดยที่ไม่ต้องเข้าไปภายในท่อนำไข่ ซึ่งจะทำให้มีความสามารถป้องกันตัวจากกระบวนการเก็บกินจากเม็ดเลือดขาว และทำให้มีโอกาสเข้าไปในท่อนำไข่เพื่อทำให้เกิดการปฏิสนธิได้มากขึ้น การถูกจับกินอย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้จำนวนตัวอสุจิภายในอวัยวะระบบสืบพันธุ์มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว (Matthijs et al., 2000) โดยที่ตัวอสุจิส่วนใหญ่ที่ถูกจับกิน จะเป็นตัวอสุจิที่มีชีวิต และ มีสภาพปกติเพื่อเป็นการจำกัดเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่จะเข้ามาเก็บกินตัวอสุจิที่ตายแล้ว การจับกินตัวอสุจิที่ปกติอย่างรวดเร็ว จะเป็นการลดความเสียหายที่จะเกิดกับตัวอสุจิที่เหลือและรักษาสภาพภายในมดลูก

การตรวจการตกไข่ด้วยเครื่องอัลตร้าซาวด์

การศึกษาเวลาตกไข่ในช่วงเป็นสัดด้วยเครื่องอัลตร้าซาวด์ โดยใช้หัวตรวจ (probe) ที่มีความถี่ 5 เมกะเฮิร์ซ โดยเทคนิคการตรวจฟอลลิเคิลผ่านทางทวารหนัก (transrectal ultrasonography) เป็นวิธีที่แม่นยำเชื่อถือได้ และให้ผลในการตรวจที่ถูกต้องแน่นอนกว่าวิธีการตรวจอัลตร้าซาวด์โดยผ่านทางผิวหนัง (transcutaneous ultrasonography) (Soede et al., 1992) รวมทั้งสามารถทำได้รวดเร็วและให้ผลที่มีความละเอียด (Knox et al., 1999) จากการศึกษาของ

Mburu และคณะ (1996) พบว่าค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลใบที่ใหญ่ที่สุด ในช่วงเริ่มการเป็นสัดเท่ากับ 0.63 เซนติเมตร ในขณะเริ่มเกิดการตกไข่ เท่ากับ 0.93 เซนติเมตร และจำนวนฟอลลิเคิลที่เกิดการตกไข่มีจำนวน 18 ± 2.6 ใบ โดยปกติการตกไข่ในแม่สุกรจะใช้เวลาประมาณ 1 – 3 ชั่วโมง เฉลี่ย 2 ชั่วโมง (Soede et al., 1992)

Weitze และคณะ (1994) พบว่าแม่สุกร 82.4 เปอร์เซ็นต์จะมีการตกไข่ในช่วง 32 – 56 ชั่วโมงหลังจากเริ่มเป็นสัด แม่สุกรประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์เป็นสัดภายใน 5 – 7 วันหลังหย่านม ระยะเวลาที่เหมาะสมที่จะทำการผสมเทียมในแม่สุกรคือ 28 ชั่วโมงก่อนการตกไข่ถึง 4 ชั่วโมงหลังการตกไข่ (Nissen et al., 1997)

การศึกษาการตรวจนับการกระจายของตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์

การศึกษาการกระจายของตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์ สามารถตรวจนับได้จากจำนวนตัวอสุจิในส่วนต่างๆของอวัยวะสืบพันธุ์ในช่วงเวลาต่างๆ ภายหลังการผสมพันธุ์ โดยการนำส่วนต่างๆ ของอวัยวะสืบพันธุ์มาตัดแบ่ง แล้วนำมาชะล้าง และตรวจนับหาจำนวนตัวอสุจิโดยวิธีฮีโมไซโตมิเตอร์ หรือนำส่วนต่างๆของอวัยวะสืบพันธุ์มามาตัดแบ่งเป็นชุดๆ แล้วนำมาตรวจนับตัวอสุจิภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กฤษทศักดิ์, 2543)

Hunter (1984) พบว่าก่อนการตกไข่ตัวอสุจิจะไปสะสมอยู่บริเวณที่กักเก็บตัวอสุจิ (sperm reservoir) และภายหลังการตกไข่จะเกิดการกระจายของตัวอสุจิอีกครั้งหนึ่งจากที่กักเก็บตัวอสุจิ โดยตัวอสุจิจะมีการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วในระหว่างการตกไข่และหลังการตกไข่ Mburu และคณะ (1996) ศึกษาการกระจายของตัวอสุจิในท่อนำไข่พบว่าในช่วงก่อนการตกไข่ อสุจิที่อยู่ในส่วน ยูทีเจ และอิสทมัสส่วนปลาย มีจำนวนมากกว่าในช่วงระหว่างตกไข่ และภายหลังการตกไข่ แต่จำนวนตัวอสุจิในส่วนอิมัสส่วนต้นจะมีน้อยกว่า และยังพบว่าพ่อพันธุ์สุกรมีอิทธิพลต่อจำนวนตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์ของแม่สุกร หลังการผสมพันธุ์ด้วย กฤษทศักดิ์ (2543) ศึกษาจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาว ในชั่วโมงที่ 3 และ 12 ภายหลังการผสมเทียม โดยแบ่งส่วนต่างๆของอวัยวะสืบพันธุ์ ได้แก่ แอมพูล่า อิสทมัสส่วนต้น อิสทมัสส่วนปลาย ยูทีเจ ปีกมดลูกส่วนต้น และปีกมดลูกส่วนปลาย พบว่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วนอิสทมัสส่วนต้น ยูทีเจ ปีกมดลูกส่วนต้น และปีกมดลูกส่วยปลาย ในชั่วโมงที่ 12 จะลดลงเมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 3 ภายหลังการผสมเทียม แต่ในอิสทมัสส่วนปลาย และแอมพูล่าจะพบจำนวนอสุจิเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่ทำการศึกษา

ศูนย์ฝึกนิสิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ต.บ่อพลับ อ.เมือง จ.นครปฐม

สัตว์ทดลอง

แม่สุกรพันธุ์ผสมสองสาย (แลนด์เรซ x ยอร์คเชียร์) จำนวน 12 ตัว เป็นแม่สุกรหลังหย่านมที่มีระยะเลี้ยงลูก 3 สัปดาห์และไม่มีความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ มีสุขภาพแข็งแรง ถูกซื้อมาจากฟาร์มเกษตรกรในวันหย่านม แม่สุกรถูกเลี้ยงในกรงตับ ที่อยู่ใกล้กับพ่อพันธุ์สุกร และได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง และมีน้ำให้แม่สุกรกินตลอดเวลา แม่สุกรที่มีรอบการเป็นสัดไม่อยู่ในเกณฑ์ปกติ เช่น ไม่แสดงการเป็นสัดภายใน 7 วันหลังหย่านม แม่สุกรที่แสดงอาการป่วย มีสุขภาพไม่แข็งแรง หรือมีการติดเชื้อในระหว่างการทดลอง และแม่สุกรที่มีความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ เช่น ถุงน้ำบนรังไข่ จะถูกคัดทิ้งและตัดออกจากการศึกษา พ่อสุกรที่ใช้ในการรีดน้ำเชื้อเพื่อผสมเทียมเป็นพ่อสุกรพันธุ์ดูร็อคเจอร์ซี่ อายุ 2 ปี จำนวน 1 ตัว ซึ่งได้ผ่านการทดสอบคุณภาพน้ำเชื้อแล้ว ถูกเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ในโรงเรือนเปิด พื้นคอกเป็นพื้นแสลต มีพื้นที่ 3x3 ตารางเมตร พ่อสุกรได้รับอาหาร 2 ครั้งในช่วงเช้าและบ่าย โดยมีน้ำกินตลอดเวลา

วิธีการคัดเลือกและแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

แม่สุกรที่แสดงการเป็นสัดภายใน 7 วันหลังหย่านมและไม่มีความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ สุขภาพแข็งแรง ถูกแบ่งเป็นกลุ่มแม่สุกรโดยการสุ่มตามเบอร์หู กลุ่มที่ 1 (n=6) ได้รับการผสมเทียมตามปกติ (conventional AI) และกลุ่มที่ 2 (n=6) ได้รับการผสมเทียมโดยการสอดท่อเข้าตัวมดลูก (IUI) แม่สุกรถูกผสมเมื่อตรวจพบเป็นสัดในครั้งที่สองหลังหย่านม

การตรวจการเป็นสัดและตรวจการตกไข่

ตรวจการเป็นสัดแม่สุกรหลังหย่านม วันละ 2 ครั้ง จนกระทั่งพบอาการก่อนการเป็นสัด (proestrus) ซึ่งจะพบการบวมแดงของปากช่องคลอด หรือพบเมือกไหล หลังจากนั้นจะทำการตรวจแม่สุกรทุกๆ 6 ชั่วโมงโดยวิธีการกดหลัง (back pressure test) ร่วมกับการใช้พ่อสุกร เพื่อกำหนดเวลาที่แม่สุกรเริ่มแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง โดยเวลาที่เริ่มยืนนิ่งเริ่มนับจาก 3 ชั่วโมงก่อนที่จะ

พบว่าแม่สุกรยืนนิ่ง ตามวิธีการของ Mburu และคณะ (1996) หลังจากแม่สุกรแสดงอาการเป็นสัดยืนนิ่งแล้วทำการตรวจการตกไข่ผ่านทางทวารหนัก ด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ชนิดเรียลไทม์ บี โมด ความถี่ 5 เมกะเฮิร์ซ ทุก 4 ชั่วโมงจนกระทั่งพบการตกไข่ เพื่อหาระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ โดยถือเอาเวลา 2 ชั่วโมงก่อนที่จะพบว่าฟอลลิเคิลบนรังไข่หายไป ทำการตรวจการเป็นสัดของแม่สุกรต่อไปจนแม่สุกรไม่ยืนนิ่ง เพื่อหาระยะเวลาสิ้นสุดการเป็นสัด ซึ่งเป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนที่แม่สุกรหยุดแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง ทำการบันทึกข้อมูลการเป็นสัด เวลาเริ่มและสิ้นสุดระยะเป็นสัด ระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ ของแม่สุกรเป็นรายตัว และเริ่มตรวจการเป็นสัดรอบที่ 2 ตั้งแต่วันที่ 18 นับจากการยืนนิ่งครั้งก่อน ก่อนแม่สุกรเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 ทำการตรวจการเป็นสัดเช้าและเย็น เมื่อพบแม่สุกรแสดงอาการก่อนการเป็นสัด ได้ทำการตรวจสัดทุกๆ 6 ชั่วโมงจนพบแม่สุกรเป็นสัดยืนนิ่ง เพื่อกำหนดระยะเวลาที่จะทำการผสมเทียม โดยใช้ระยะเวลาการตกไข่ที่ได้จากการตรวจสัดในครั้งแรกมาคำนวณหาเวลาที่จะทำการผสมเทียม โดยผสมเทียมก่อนเวลาที่คาดว่าจะเกิดการตกไข่ 6-8 ชั่วโมง

การรีดเก็บน้ำเชื้อและการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียม

ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร โดยวิธี gloved hand method หลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อมาได้ นำมาทำการตรวจคุณภาพ โดยตรวจดูสี ปริมาตร การเคลื่อนไหว และ ตรวจความเข้มข้นด้วย spectrophotometer (Spermacue® Minitube, Germany) น้ำเชื้อที่ผ่านการตรวจคุณภาพว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ (อรรณพ, 2545) และมีอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าไม่ต่ำกว่า 70 % จะนำมาทำการเจือจางด้วยสารละลาย Beltsville Thawing Solution (BTS® Minitube, Germany) ให้ได้ปริมาตรและความเข้มข้น 3 พันล้านตัวต่อ 100 มิลลิลิตรหรือ 1 พันล้านตัวต่อ 50 มิลลิลิตร โดยคำนวณจากจำนวนอสุจิมีชีวิตต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่วัดได้ต่อมิลลิลิตรคูณด้วยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ) น้ำเชื้อที่ทำการเจือจางแล้วจะถูกนำไปใช้ทันทีหรือเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 16 – 19 °C น้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ เมื่อจะนำไปใช้ไม่เกิน 48 ชม. โดยก่อนที่จะนำไปผสมเทียมต้องทำการอุ่นน้ำเชื้อที่อุณหภูมิระหว่าง 35 - 37 °C เป็นเวลา 15 นาที และตรวจพบว่ามีตัวอสุจิที่มีอัตราการเคลื่อนไหวไม่ต่ำกว่า 60 %

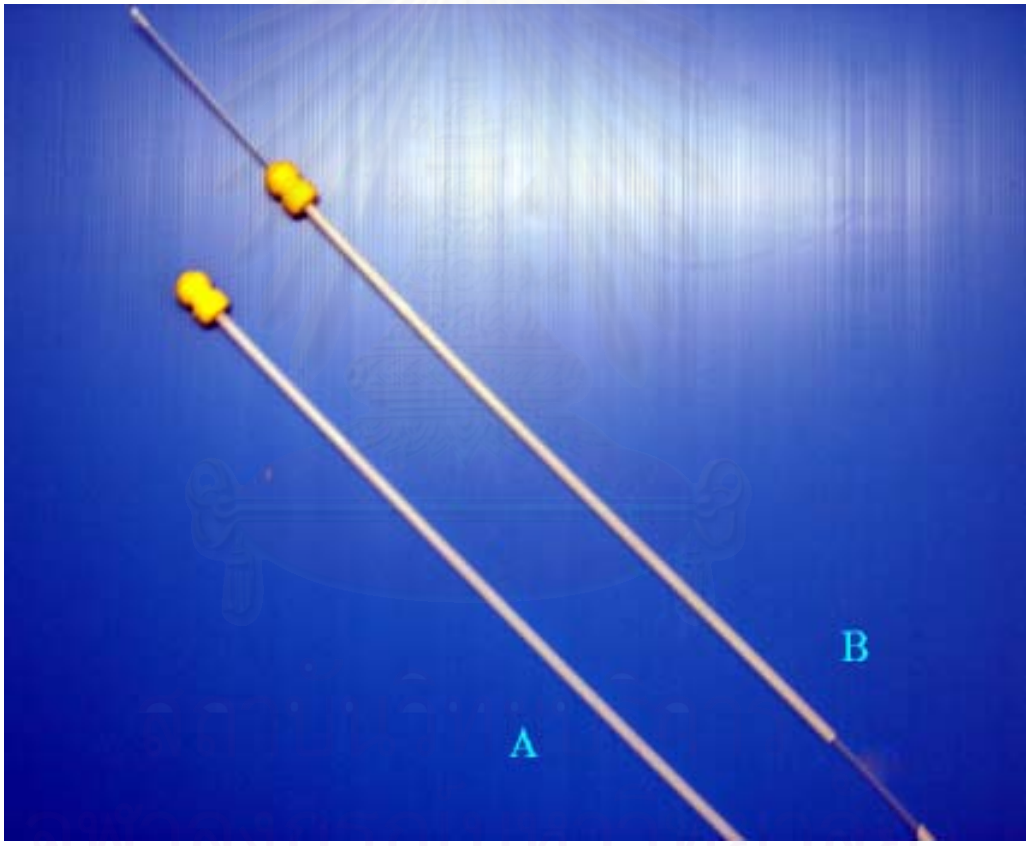
การผสมเทียม

ในการทำการผสมเทียมจะผสมเทียมในแม่สุกรเป็นสัดยืนนิ่งในรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 และก่อนเวลาที่คาดว่าจะเกิดการตกไข่ 6 – 8 ชั่วโมง โดยจะแบ่งแม่สุกรออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

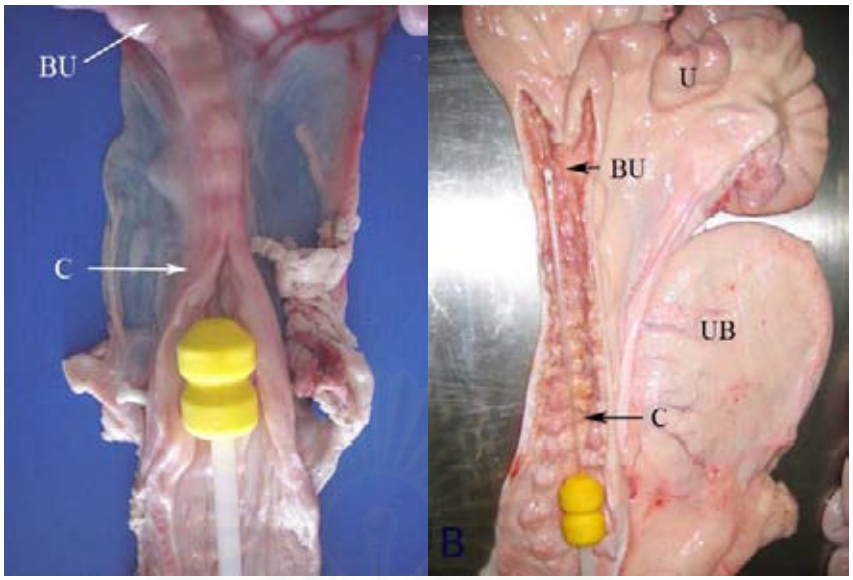
กลุ่มที่ 1 การผสมเทียมโดยวิธีการผสมเทียมตามปกติ (conventional AI) โดยทำความสะอาด และเช็ดบริเวณปากช่องคลอดของแม่สุกรและทำให้แห้ง ทำการสอดท่อผสมเทียมชนิด

Goldenpig® (IMV, France) (รูปที่ 1, A) สอดท่อผสมเทียมให้เข้าไปล็อกอยู่ในคอมดลูก (รูปที่ 2, A) ฉีดน้ำเชื้อเจือจางที่บรรจุอยู่ในถุงพลาสติก (cochete) ที่มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร และมีจำนวนตัวอสุจิมีชีวิตทั้งหมด 3 พันล้านตัว

กลุ่มที่ 2 การผสมเทียมโดยวิธีการสอดท่อเข้าตัวมดลูก (IUI): ทำความสะอาด และเช็ดบริเวณปากช่องคลอดของแม่สุกรและทำให้แห้ง และทำการสอดท่อผสมเทียมชนิด Deep goldenpig™ (IMV, France) (รูปที่ 1, B) ให้เข้าไปล็อกอยู่ในคอมดลูก แล้วค่อยๆสอดท่อขนาดเล็กที่อยู่ด้านในท่อผสมเทียมให้ผ่านคอมดลูกจนกระทั่งปลายไปอยู่ในตัวมดลูก (รูปที่ 2, B) ฉีดน้ำเชื้อเจือจางที่มีจำนวนตัวอสุจิ 1 พันล้านตัว ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยผ่านทางท่อขนาดเล็กที่อยู่ด้านในท่อผสมเทียม



รูปที่ 1 ท่อผสมเทียมชนิดสอดเข้าคอมดลูก (Coventional AI; Goldenpig) (A) และท่อผสมเทียมชนิดสอดเข้าคอมดลูก(intrauterine insemination; Deepgoldenpig) (B)



(A) (B)

รูปที่ 2 อวัยวะสืบพันธุ์แม่สุกรและตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อขณะทำการผสมเทียมโดยเทคนิคการผสมเทียมตามปกติ (A) และการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก (B) (C = คอมดลูก; BU = ตัวมดลูก ; U = ปีกมดลูก; UB = กระเพาะปัสสาวะ)

วิธีการผ่าตัดและชะล้างและการตรวจนับตัวอสุจิ

แม่สุกรจะถูกวางยาสลบ และทำการศัลยกรรมช่องท้อง 24 ชั่วโมง ภายหลังการผสมเทียม ในการวางยาสลบ โดยใช้ Azaperone (Stretnil®; Janssen pharmaceutica) ขนาด 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นการชักนำการสลบ และใช้ Thio-pental sodium (Pentothalsodium®; Abbott laboratories) ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เพื่อทำให้สลบ หลังจากแม่สุกรสลบแล้วจะทำการเปิดผ่าช่องท้องและทำการห้ามเลือดโดยผูกหลอดเลือดที่มาเลี้ยงมดลูก ปีกมดลูก เพื่อนำรังไข่ ปีกมดลูก และมดลูกของแม่สุกรออกจากช่องท้อง หลังจากนั้นทำการผูกท่อนำไข่ และปีกมดลูก ของแม่สุกร โดยแบ่งท่อทางเดินอวัยวะสืบพันธุ์ออกเป็น 7 ส่วน ทั้งด้านซ้ายและขวา (รูปที่ 3) ดังนี้

ส่วนที่ 1 ส่วน Ampulla (2/3 ของ ampulla ที่ติดกับส่วนต้นของ isthmus)

ส่วนที่ 2 ส่วนต้นของ Isthmus (1/2 ของ isthmus ที่ติดกับส่วน ampula)

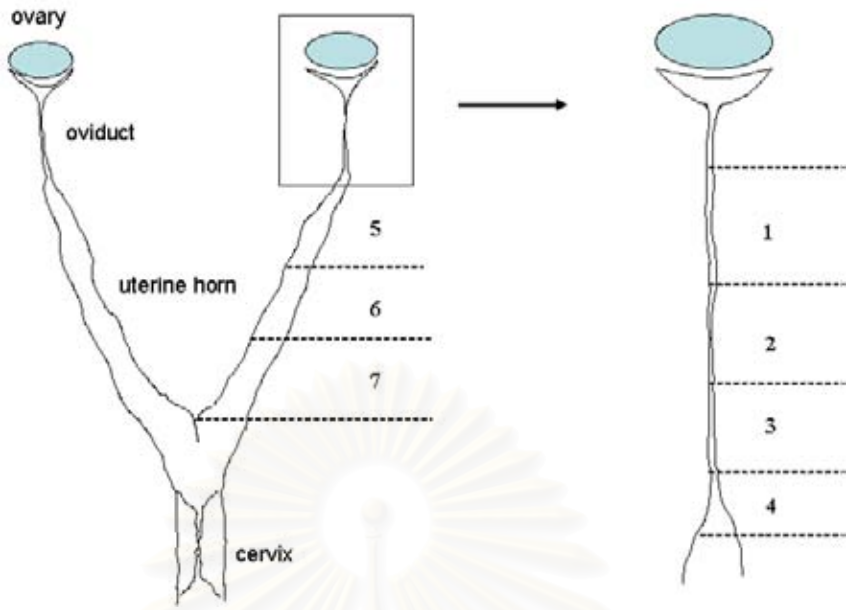
ส่วนที่ 3 ส่วนปลายของ Isthmus (1/2 ของ isthmus ที่ติดกับส่วน UTJ)

ส่วนที่ 4 ส่วนของ Utero tubal junction (UTJ) นับจากส่วนปลาย 1 เซนติเมตร ของปีกมดลูก และส่วน isthmus จำนวน 1 เซนติเมตร

ส่วนที่ 5 ส่วนต้นของปีกมดลูก (1/3 ของปีกมดลูกที่ติดกับส่วนของ UTJ)

ส่วนที่ 6 ส่วนกลางของปีกมดลูก (1/3 ของปีกมดลูกที่ติดกับส่วนต้นของปีกมดลูก)

ส่วนที่ 7 ส่วนปลายปีกมดลูก (1/3 ของปีกมดลูกที่ติดกับส่วนกลางของปีกมดลูก)



รูปที่ 3 การแบ่งส่วนต่างๆ ของปีกมดลูกและท่อนำไข่ (1= แอมพูลา; 2= อิสทมัสส่วนต้น; 3= อิสทมัสส่วนปลาย; 4= ยูทีเจ; 5= ปีกมดลูกส่วนต้น; 6= ปีกมดลูกส่วนกลาง; 7= ปีกมดลูกส่วนปลาย)

ส่วนของแอมพูล่าทำการชะล้างด้วย BTS (BTS®; Mintube) จำนวน 1 มิลลิลิตร 2 ครั้ง ส่วน isthmus ทั้ง 2 ส่วน และส่วน UTJ นำแต่ละส่วนมาชะล้างด้วย 0.5 มิลลิลิตร ของ BTS จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้เข็มเบอร์ 21 ที่ทำการตัดปลาย ลงในหลอดอิเพนดอร์ฟ (plastic eppendorf vials) และส่วนปีกมดลูกในแต่ละส่วนจะนำมาชะด้วย 20 มิลลิลิตร ของ BTS จำนวน 2 ครั้ง ลงในขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ชะล้างได้ไปตรวจนับโดยฮีโมไซโตมิเตอร์ (Improved Neubauer® Boeco, Germany) หากไม่พบจำนวนตัวอสุจิหรือพบจำนวนน้อย ให้ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็ว 1,000 รอบ/วินาที เป็นเวลา 5 นาที เอาของเหลวใสที่ลอยอยู่ด้านบนออก แล้วจึงทำการนับจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในแต่ละส่วนอีกครั้ง จำนวนอสุจิทั้งหมดที่ได้จากการตรวจนับนำมาคำนวณต่อปริมาตรในแต่ละส่วนของท่อนำไข่และปีกมดลูก ทั้งด้านซ้ายและขวา

เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

รายละเอียดวัสดุและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย อยู่ในภาคผนวก

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่รวบรวมมาได้นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม เอส เอ เอส (SAS: Statistical Analysis System; SAS Institute version 6.12, Cary, NC USA) โดยทำการหา

ค่าความถี่ และค่าเฉลี่ย และเปรียบเทียบสัดส่วนของตัวอสุจิที่ส่วนต่างๆ ในท่อทางเดินสืบพันธุ์ ได้แก่ ส่วนของปีกมดลูก รอยต่อของมดลูกและปีกมดลูก ส่วนต้น และส่วนท้ายของอิสมัส และส่วนแอมพูลา ทั้งสองด้าน ระยะเวลาเป็นสัดหลังหย่านม ระยะเวลาเป็นสัด ระยะเวลาตกไข่ จำนวนอสุจิที่ตรวจพบในท่อนำไข่ และปีกมดลูกของแต่ละกลุ่ม รายงานด้วยค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และรายงานจำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนต่างๆ ของท่อนำไข่ และปีกมดลูก ในแต่ละกลุ่มเพื่อเปรียบเทียบด้วยค่าเฉลี่ยในรูป LSM (Least square means) วิเคราะห์ผลทางสถิติ และทดสอบระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้ Fisher' exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ได้นำแม่สุกรเข้ามาในการศึกษาจำนวน 18 แม่และพบแม่สุกรจำนวน 2 ตัว มีการติดเชื้อของท่อเดินระบบสืบพันธุ์โดยมีเมือกขุ่นปนหนองไหลออกมาจากปากช่องคลอด แม่สุกรจำนวน 3 ตัวเป็นถุงน้ำบนรังไข่ จากการตรวจหาระยะเวลาตกไข่โดยวิธีอัลตร้าซาวด์ และแม่สุกรจำนวน 1 ตัวไม่แสดงอาการเป็นสัดภายใน 7 วัน จึงได้ทำการตัดแม่สุกร 6 ตัวออกจากการทดลอง การศึกษาครั้งนี้และข้อมูลที่นำมาสรุปและวิเคราะห์มาจากแม่สุกรทั้งหมด จำนวน 12 ตัว

ไม่พบเลือดที่ปลายท่อผสมเทียมหรือเลือดออกจากการผสมเทียมในสุกรทั้ง 2 กลุ่ม พบการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อขณะผสมเทียม โดยพบ 3 ตัวใน 6 ตัวของแม่สุกรกลุ่มที่ 1 และไม่พบเลยในกลุ่มที่ 2 แม่สุกรที่ทุกตัวที่ทำการผ่าตัด พบว่าเกิดการตกไข่หมดแล้ว

ลักษณะการเป็นสัด และระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่

ค่าเฉลี่ย ของลำดับครอก ระยะหย่านมถึงเป็นสัด ระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง และระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ของแม่สุกร ในรอบการเป็นสัดครั้งแรก โดยแยกตามกลุ่มแม่สุกรแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมแบบปกติ (กลุ่มที่ 1) และแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก (กลุ่มที่ 2) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ระยะหย่านมถึงเป็นสัด ระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ และระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของลำดับครอก ระยะหย่านมถึงเป็นสัด ระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ และระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่งของแม่สุกร

กลุ่ม	จำนวนแม่สุกร (ตัว)	ลำดับครอก	ระยะหย่านมถึงเป็นสัด (วัน)	ระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ (ชั่วโมง)	ระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง (ชั่วโมง)
AI	6	6.4 ± 1.1	5.3 ± 1.5	33.5 ± 8.2	57.5 ± 10.3
IUI	6	5.0± 1.8	4.7 ± 0.7	34.8 ± 10.3	50.0 ± 12.8

ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์และจำนวนคอร์โปร่า ลูเทีย

ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์ และจำนวน คอร์โปร่า ลูเทีย (CL) ทั้งหมดของรอบการเป็นสัดปัจจุบันและในรอบการเป็นสัดที่ผ่านมา แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความยาวท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์และจำนวนคอร์โปร่า ลูเทีย (CL) ในแม่สุกร

กลุ่ม	จำนวนแม่สุกร (ตัว)	ท่อนำไข่ (เซนติเมตร)	ปีกมดลูก (เซนติเมตร)	คอร์โปร่า ลูเทีย	คอร์โปร่า ลูเทียของรอบการเป็นสัดที่ผ่านมา
AI	6	28.3 ± 1.9	119.3 ± 9.5	18.6 ± 5.7	16.8 ± 4.0
IUI	6	26.3 ± 2.7	125.5 ± 14.0	20.3 ± 3.3	16.0 ± 6.3

การกระจายของตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ด้านซ้ายและขวา

สุกรกลุ่มที่ 1 ภายหลังการผสมเทียม 24.8 ± 0.1 ชั่วโมง และสุกรกลุ่มที่ 2 ภายหลังการผสมเทียม 26.0 ± 1.4 ชั่วโมง ตรวจพบตัวอสุจิในทั้ง 2 ด้านของปีกมดลูกและท่อนำไข่ และได้แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนต่างๆ ในตารางที่ 3 จำนวนตัวอสุจิในส่วนต่างๆของท่อนำไข่และปีกมดลูกด้านซ้ายและขวาของแม่สุกรในกลุ่มที่ 1 และของแม่สุกรกลุ่มที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนจำนวนตัวอสุจิในด้านซ้ายของท่อนำไข่และปีกมดลูกในทุกๆส่วน ระหว่างแม่สุกรกลุ่มที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นเดียวกับทางด้านขวา

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย (mean) ของจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมตามปกติและแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก

กลุ่ม	จำนวนแม่สุกร (ตัว)	ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิในส่วนต่างๆของท่อนำไข่และปีกมดลูก* (ตัว)						
		1	2	3	4	5	6	7
AI								
ซ้าย	6	48^{a}	216^{ab}	776^{b}	$85,000^{c}$	$54,116^{cd}$	$35,833^{d}$	$24,833^{d}$
ขวา	6	38^{a}	126^{ab}	634^{b}	$57,500^{c}$	$35,333^{cd}$	$33,333^{d}$	$20,166^{d}$
IUI								
ซ้าย	6	40^{a}	143^{ab}	677^{b}	$75,000^{c}$	$50,833^{cd}$	$37,500^{d}$	$15,916^{d}$
ขวา	6	44^{a}	153^{ab}	603^{b}	$56,166^{c}$	$39,167^{cd}$	$28,167^{d}$	$21,333^{d}$

หมายเหตุ ; * ส่วนที่ 1 แอมพูล่า 2 อิสมัสส่วนต้น 3 อิสมัสส่วนปลาย 4 ยูทีเจ
5 ปีกมดลูกส่วนต้น 6 ปีกมดลูกส่วนกลาง 7:ปีกมดลูกส่วนปลาย

^{abcd} อักษรต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

การกระจายของตัวอสุจิทั้งหมดในอวัยวะสืบพันธุ์

ค่าเฉลี่ยของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด โดยรวมจำนวนตัวอสุจิทั้งด้านซ้ายและด้านขวาของอวัยวะสืบพันธุ์ของแม่สุกร ภายหลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง ของสุกรกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 และพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่พบในท่อนำไข่และปีกมดลูก

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย (mean) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกร ภายหลังการผสมเทียม

กลุ่ม	จำนวนแม่สุกร (ตัว)	ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในท่อนำไข่และปีกมดลูกส่วนต่างๆ* (ตัว)						
		1	2	3	4	5	6	7
AI	6	87 [a]	343 [a]	1,411 [b]	142,500 [c]	90,000 [c]	69,167 [cd]	45,000 [d]
IUI	6	85 [a]	296 [a]	1,280 [b]	131,167 [c]	90,000 [c]	66,167 [cd]	37,250 [d]

หมายเหตุ ; * ส่วนที่ 1 แอมพูล่า 2 อิสมัสส่วนต้น 3 อิสมัสส่วนปลาย 4 ยูทีเจ
5 ปีกมดลูกส่วนต้น 6 ปีกมดลูกส่วนกลาง 7:ปีกมดลูกส่วนปลาย
[abcd] อักษรต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p <0.05$)

และการเปรียบเทียบสัดส่วนของจำนวนตัวอสุจิที่พบในท่อนำไข่ และปีกมดลูกต่อจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่พบได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 สัดส่วนของจำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนต่างๆ ของท่อนำไข่และปีกมดลูก ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 5 แสดงสัดส่วน (proportion) ของจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกรต่อจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบ ภายหลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง

กลุ่ม	จำนวนแม่สุกร (ตัว)	สัดส่วนของจำนวนตัวอสุจิที่ตรวจพบ/ทั้งหมดในท่อนำไข่และปีกมดลูกส่วนต่างๆ*						
		1	2	3	4	5	6	7
AI	6	0.02	0.10	0.44	41.51	24.97	20.29	12.74
IUI	6	0.03	0.11	0.46	41.73	27.35	19.31	10.97

หมายเหตุ ; * ส่วนที่ 1 แอมพูล่า 2 อิสมัสส่วนต้น 3 อิสมัสส่วนปลาย 4 ยูทีเจ
5 ปีกมดลูกส่วนต้น 6 ปีกมดลูกส่วนกลาง 7:ปีกมดลูกส่วนปลาย

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การตรวจการเป็นสัดและการตกไข่ในแม่สุกร

จากการศึกษาพบว่าระยะหย่านมถึงเป็นสัด ระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ ระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม โดยระยะเริ่มยืนนิ่งตกไข่ของแม่สุกรที่ทราบจากการศึกษาวงจรการเป็นสัดในรอบแรก จะถูกนำไปใช้ในการกำหนดระยะเวลาที่จะทำการผสมเทียมในรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 โดยมีรายงานการศึกษาของ Mburu และคณะ (1995) พบว่าระยะเป็นสัดมีความสัมพันธ์กับระยะเริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ เช่นเดียวกับรายงานของ Soede และคณะ (1995) Steverink และคณะ (1997) ที่พบว่า ระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งเกิดการตกไข่ในแม่สุกรนางจะอยู่ในช่วง 2 ใน 3 ของระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่ง ดังนั้นข้อมูลจาการเป็นสัดในรอบแรกจึงสามารถกำหนดระยะแสดงการเป็นสัดยืนนิ่งและระยะเริ่มยืนนิ่งถึงตกไข่ของรอบการเป็นสัดครั้งที่สองได้

อัตราการตกไข่ในรอบที่ 1 และ 2 หลังหย่านมในแม่สุกร

จำนวนคอร์โปร่า ลูเตียทั้งหมด ทั้งในรอบการเป็นสัดปัจจุบันและรอบการเป็นสัดที่ผ่านมาที่ตรวจนับภายหลังการผ่าตัด หลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง ของรอบการเป็นสัดทั้งสองนั้น ก็ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าสุกรทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างด้านจำนวนไข่ที่ตก ในรอบที่ 1 และ 2 หลังหย่านม

ผลของคุณภาพน้ำเชื้อต่อการขนส่งตัวอสุจิและการไหลย้อนกลับ

จำนวนตัวอสุจิที่พบในอวัยวะสืบพันธุ์จะมีปัจจัยที่มาเกี่ยวข้องหลายๆอย่าง ได้แก่คุณภาพของน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และปริมาตรของน้ำเชื้อ นอกจากนี้จำนวนตัวอสุจิในส่วนต่างๆในอวัยวะสืบพันธุ์ยังสัมพันธ์กับการไหลกลับของน้ำเชื้อ โดยจำนวนตัวอสุจิส่วนหนึ่งจะสูญเสียไปกับการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ แต่เทคนิคการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกในสุกรจะพบว่า ในระหว่างทำการผสมเทียมหรือภายหลังการผสมเทียม จะมีการไหลย้อนกลับน้อยมากหรือแทบไม่พบเลย (Watson and Behan, 2002) คุณภาพของน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียมจะมีผลต่อการกระจายตัวของตัวอสุจิโดยพบว่า ตัวอสุจิที่ตายหรือมีความผิดปกติ จะมีผลต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิเข้าไปในระบบสืบพันธุ์ และจะพบว่าตัวอิสุจที่ตายก็สามารถเคลื่อนที่เข้าไปในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ได้ถึงแม้ว่าจะมีจำนวนน้อยกว่าตัวอสุจิปกติที่มีชีวิต (Viring, 1980)

ผลของเทคนิคการใช้ท่อผสมเทียมแบบ IUI ต่อแม่สุกร

ในการศึกษาครั้งนี้เปรียบเทียบเทคนิคการผสมเทียม ความเข้มข้น และปริมาตรของน้ำเชื้อที่ใช้แตกต่างกัน พบว่าในการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก (กลุ่มที่ 2) สามารถที่จะทำการสอดท่อผสมเทียมผ่านคอมดลูกได้ในแม่สุกรทุกตัว และไม่พบเลือดที่ปลายท่อผสมเทียมหลังจากทำการผสมเทียมเสร็จแล้ว สอดคล้องกับการศึกษาของ Roca และคณะ (2003) ที่สามารถสอดท่อผ่านคอมดลูกแม่สุกรจำนวน 94.0 เปอร์เซ็นต์ และพบเลือดที่ปลายท่อจำนวน 1.7 เปอร์เซ็นต์ และผลการศึกษาของ Dollanora `และคณะ (2004) พบว่าแม่สุกรจำนวน 94.7 เปอร์เซ็นต์สามารถที่จะสอดท่อได้และพบเลือดที่ปลายท่อจำนวน 1.7 เปอร์เซ็นต์

การไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อหลังการผสมเทียม

ในแม่สุกรกลุ่มที่ผสมเทียมด้วยวิธี AI ปกติ พบว่ามีการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ ระหว่างทำการผสม ในขณะที่สุกรกลุ่มที่ผสมเทียมด้วยวิธี IUI ซึ่งใช้ความเข้มข้นของตัวอสุจิ และปริมาตรน้อยลง ไม่พบการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อในขณะทำการผสมเลย อาจเกิดเนื่องจากการปล่อยน้ำเชื้อโดยตรงเข้าไปในมดลูกในปริมาตรที่น้อยกว่า ทำให้การกระจายของตัวอสุจิในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ดีหรือเร็วกว่าเมื่อเทียบกับการผสมเทียมตามปกติ และทำให้ไม่เกิดการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อในขณะทำการผสม จากการศึกษาของ Steverink และคณะ (1998) พบว่า ในการผสมเทียมตามปกติโดยใช้ปริมาตรในการผสม 80 มิลลิลิตร ภายหลังการผสมเทียม 30 นาที พบว่าจำนวนสุกรเกือบทุกตัวที่มีการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ (98 เปอร์เซ็นต์) และจะมีจำนวนของตัวอสุจิมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับระหว่างทำการผสม จากการศึกษาของ Dollanora และคณะ (2004) พบว่าในการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูกนั้นก็สามารถพบการไหลกลับของน้ำเชื้อภายหลังทำการผสมเทียมบ้าง การไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อมีปัจจัยต่างๆ ที่เข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ การบีบตัวของมดลูกจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนในช่วงระยะเป็นสัด อุณหภูมิของน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสม และอาจเกิดจากขณะผสมเทียมมีการบีบไล่น้ำเชื้อเข้าสู่มดลูกแรงเกินไปหรือใช้เวลาในการผสมเทียมน้อยเกินไป ทำให้มีโอกาสที่จะพบการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อมากขึ้น ในการผสมเทียมโดยใช้จำนวนตัวอสุจิในการต่ำ ร่วมกับมีการสูญเสียจำนวนตัวอสุจิระหว่างทำการผสมเทียมอาจเป็นผลทำให้อัตราปฏิสนธิต่ำกว่าที่ควรจะเป็น (Stevernk et al., 1998)

การสูญเสียของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียม

ภายหลังการผสมเทียม นอกจากจะสูญเสียตัวอสุจิจากการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อแล้ว ตัวอสุจิส่วนหนึ่งโดยเฉพาะที่อยู่ในมดลูก จะถูกเม็ดเลือดขาวและเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเข้ามาเก็บกิน (Matthijs et al., 2003) Mburu และคณะ (1996) รายงานว่าภายหลังการผสมเทียม ก่อนการตกไข่

ตัวอสุจิส่วนใหญ่จะเข้าไปอยู่ตรงบริเวณส่วนต่อของท่อนำไข่และปีกมดลูก และส่วนล่างของอิสมัส แต่ภายหลังการตกไข่ตัวอสุจิจะเข้าไปอยู่ในส่วนของอิสมัสส่วนบนมากขึ้น ส่วนรอยต่อของท่อนำไข่และปีกมดลูก จะเป็นบริเวณที่สะสมของตัวอสุจิ โดยบริเวณนี้มีสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการมีชีวิตของตัวอสุจิและยังทำหน้าที่ช่วยกรองตัวอสุจิที่จะผ่านเข้าไปในท่อนำไข่ด้วย (Rigby, 1966; Tienthai, 2003)

การกระจายของตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ทั้ง 2 ข้างหลังการผสมเทียม

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์ที่ส่วนต่างๆ ภายหลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง ของกลุ่มที่ 1 เปรียบเทียบในแต่ละด้าน พบว่าทางด้านซ้ายของท่อนำไข่และปีกมดลูก มีแนวโน้มของจำนวนตัวอสุจิมากกว่าจำนวนตัวอสุจิที่อยู่ทางด้านขวา แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การที่พบจำนวนตัวอสุจทางด้านซ้ายมีแนวโน้มที่มากกว่าทางด้านขวา อาจเป็นผลมาจากรังไข่ด้านซ้ายมีการทำงานมากกว่าด้านขวา โดย Kunavongkrit และ Larsson (1982) รายงานว่ารังไข่ด้านซ้ายมีขนาดและน้ำหนักมากกว่าด้านขวา ซึ่งแสดงถึงการทำงานที่มากกว่า เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2 ที่พบว่าจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่และปีกมดลูกทั้งทางด้านซ้ายและขวา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิที่อยู่ในอวัยวะสืบพันธุ์ระหว่างแม่สุกรทั้ง 2 กลุ่มพบว่า จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในท่อนำไข่และปีกมดลูกส่วนต่างๆ ภายหลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนตัวอสุจิในส่วนท้ายของท่อนำไข่ และส่วนรอยต่อของท่อมดลูกและท่อนำไข่ (UTJ) ซึ่งจำนวนตัวอสุจิที่อยู่ในส่วนนี้ มีความสำคัญต่อการเกิดการปฏิสนธิมากกว่าตัวอสุจิที่พบในส่วนอื่นๆ ของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ (Kirkwood, 2003) แม้ความเข้มข้นของตัวอสุจิหรือปริมาตรของน้ำเชื้อ รวมทั้งตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อในการผสมเทียมจะมีผลต่ออัตราการเข้าคลอด หรือประสิทธิภาพการผสม (Flowers, 2002) แต่ก็ไม่มากกว่าจำนวนตัวอสุจิที่พบอยู่ในส่วนของท่อนำไข่ หากพบจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่ที่มากพอ จะทำให้อัตราการเข้าคลอดสูง หรือทำให้ประสิทธิภาพในการผสมเทียมสูงขึ้นตามไปด้วย ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า จำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนของท่อนำไข่และรอยต่อของท่อนำไข่และปีกมดลูก ของแม่สุกรทั้งกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงน่าจะเป็นเหตุผลในการอธิบายถึงผลการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอก ที่ไม่แตกต่างกันในเทคนิคการผสมเทียมทั้งสอง ในการศึกษาที่ผ่านมา (Watson and Behan, 2002)

ผลกระทบที่เกิดจากการลดปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำเชื้อ

การผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกนั้น ถึงแม้ว่าจะช่วยลดความเข้มข้นหรือปริมาตรของน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมลงได้ ทำให้การใช้พ่อพันธุ์มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถจะทำการผสมเทียม

แม่สุกรได้จำนวนตัวเพิ่มมากขึ้นจากการรีดเก็บน้ำเชื้อในแต่ละครั้ง แต่มีสิ่งที่ควรพิจารณาคือปริมาณของน้ำเลี้ยงเชื้อที่อยู่ในน้ำเชื้อเจือจางที่จะใช้ผสมนั้นจะต้องไม่น้อยกว่า 8 – 12 เปอร์เซ็นต์ หากในน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียมมีปริมาณของน้ำเลี้ยงเชื้อน้อยกว่าที่ควรจะเป็น จะมีผลต่ออัตราการผสมติดได้ โดยมีผลให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบภายหลังได้รับการผสมเทียมในมดลูกอยู่นานมากกว่า 36 ชั่วโมง (Rozeboom et al., 2000) น้ำเลี้ยงเชื้อนอกจากจะช่วยป้องกันตัวอสุจิ ให้อาหาร ช่วยในกระบวนการคาปาซิเตชั่น และการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิทำให้มีจำนวนที่มากพอเข้าไปในส่วนท่อนำไข่เพื่อทำให้เกิดการปฏิสนธิ ยังมีผลป้องกันการเข้ามาเก็บกินตัวอสุจิของเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยไปทำให้เม็ดเลือดขาวหมดไปจากมดลูกภายในเวลาอันสั้น รวมทั้งมีผลต่อการตกไข่ด้วย (Waberski et al., 1994)

ปริมาณตัวอสุจิที่พบในท่อนำไข่หลังการผสมเทียมด้วยวิธี AI และ IUI

ปริมาณอสุจิที่เข้าไปอยู่ในมดลูกภายหลังการผสมเทียมตามปกติ พบว่าภายใน 1-3 ชั่วโมงแรกจะเกิดการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ ในแม่สุกรนาง 70 เปอร์เซ็นต์พบว่าเกิดการไหลกลับของน้ำเชื้อที่ 2 ชั่วโมงภายหลังการผสมด้วยน้ำเชื้อปริมาตร 80 มิลลิลิตร (Steverink et al., 1998) ดังนั้นปริมาตรของน้ำเชื้อ ที่สามารถเข้าไปถึงส่วนต่อของท่อนำไข่และปีกมดลูกจะมีการแปรผัน โดยส่วนใหญ่จะพบว่ามีจำนวนน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของปริมาตรที่เข้าไปในมดลูก ในการศึกษาครั้งนี้ก็ไม่พบว่ามีการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อระหว่างทำการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก แต่พบการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อในระหว่างทำการผสมเทียมตามปกติ สามารถลดการสูญเสียจำนวนตัวอสุจิได้ ดังนั้นการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูกน่าจะลดการสูญเสียตัวอสุจิจากการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อได้

สรุปผลการวิจัย

การผสมเทียมโดยการสอดท่อเข้าตัวมดลูกในแม่สุกร โดยใช้จำนวนตัวอสุจิ 1 พันล้านตัว ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร มีการกระจายของตัวอสุจิในอวัยวะสืบพันธุ์แม่สุกร (ปีกมดลูกและท่อนำไข่) ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากวิธีการผสมเทียมตามปกติ โดยใช้จำนวนตัวอสุจิ 3 พันล้านตัว ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนของท่อนำไข่ซึ่งมีความสัมพันธ์ต่ออัตราการผสมติด หรืออัตราการเข้าคลอดในแม่สุกรมากกว่า จำนวนตัวอสุจิที่พบในส่วนอื่นๆ ของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ จะพบว่าจำนวนตัวอสุจิที่พบในท่อนำไข่ ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังการผสมเทียมของแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมและศึกษาประยุกต์ใช้ผลการศึกษา ในการปรับปรุงเทคนิคการผสมเทียมในสุกรให้เกิดประสิทธิภาพ โดยอาจจะพิจารณาปรับเปลี่ยนความเข้มข้น และ/หรือปริมาตรของน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมพันธุ์ เพื่อหาจำนวนตัวอสุจิ หรือปริมาตรของน้ำเชื้อที่เหมาะสมที่จะใช้ในในการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในสุกรสาว

2. ควรทำการศึกษาถึงอัตราการปฏิสนธิ อัตราการเข้าคลอด และจำนวนลูกต่อครอกภายหลังการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูกในแม่สุกร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กฤษทศักดิ์ แสงกาศนีย์. 2543. การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาวในชั่วโมงที่ 3 และ 12 ภายหลังการผสมเทียมโดยแบ่งและไม่แบ่งส่วนน้ำเชื้อเจือจาง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปาริฉัตร สุขโต. 2544. เทคโนโลยีชีวภาพทางวิทยาการสืบพันธุ์เพื่อการผลิตปศุสัตว์. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2541. คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร:สำนักพิมพ์สัตว์เศรษฐกิจ.

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2545. วิทยาการสืบพันธุ์สุกร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Baker, R.D., Dziuk, P.J. and Norton, H.W. 1968. Effect of volume of semen and drugs on transport of sperm in artificial inseminated Gilts. J. Anim. Sci. 27:88-93.

Claus, R., Hoang-Vu. C., Ellendorfft, F., Meyers, H.D., Schoopper, D. and Weiler, U. 1987. Seminal oestrogens in the boar: origin and functions in the sow. J. Steroid Biochem. 27:331-336.

Dollanora, D., Mezalira, A., Katner, L.H., Bernadi, M.L., Bortolozzo, F.P. and Wentz, I. 2004. Volume and sperm number in the semen backflow after intrauterine insemination or cervical insemination in sows. In: Abstract of the International Congress on Animal Reproduction, Belo Horizonte. MG. Brazil. CBRA. 2: pp.387

Fazeli, A., Duncan, A.E., Watson, P.F. and Holt, W.V. 1999. Sperm-oviduct interaction: Induction of capacitation and preferential binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelial cells in porcine species. Biol. Reprod. 60:879-886.

First, N.L., Short, R.E., Peters, J.B. and Stratmen, F.W. 1968. Transport and loss of boar spermatozoa in the reproductive tract of the sow. J. Anim. Sci. 27:1037-1040.

Flowers, W.L. 2002. Increasing fertilization rate of boars: Influence of number and quality of spermatozoa inseminated. J. Anim. Sci. 80(E. Suppl.1):47-53.

Flowers, W.L. and Alhusen, H.D. 1992. Reproductive performance and estimated of labor requirement associated with combinations of artificial insemination and natural service in swine. J. Anim. Sci. 70:615-621.

Hughes, P.E. and Hemsworth, P.H. 1994. Matingmanagement and artificial insemination. In: Principles of pig science. (1994) D.J.A. Cole, J. Wiseman, M.A.Varley (eds.) Nottingham University Press.Nottingham, UK. 253-275.

Hunter, R.H.F. 1981. Sperm transport and reservoirs in the pig oviduct in relation to the time of ovulation. J. Reprod. Fertil. 63:109–117.

Hunter, R.H.F. 1984. Pre-ovulatory arrest and peri-ovulatory redistribution of competent spermatozoa in the isthmus of the pig oviduct. J. Reprod. Fertil. 72:203-211.

Hunter, R.H.F. 1991. Oviduct function in pigs, with particular reference to the pathological conditionof polyspermia. Mol. Reprod. Dev. 29: 385-391.

Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.M. 2002. The influence of pre- and post-ovulatory insemination on sperm distribution in the oviduct, accessory sperm to the zona pellucida, fertilization rate and embryo development in sows. Anim. Reprod. Sci. 71: 239-248.

Kirkwood, R. 2003. Technique to fine tune reproduction. London swine conference. Maintaining Your Competitive Edge. 3:66-68.

Knox, R.V., Lamberson WR, and Robb J. 1999. Factors influencing time of ovulation in post-weaned sows determined by trans-rectal ultrasound. Theriogenology. 51:435.

Krueger, C. and D. Rath. 2000. Intrauterine insemination in sows with reduced sperm number. Reprod. Fertil. Dev. 17:113-117.

Krueger, C., D. Rath, and L.A. Johnson. 1999. Low dose insemination in synchronized gilts. Theriogenology. 52:1363-1373.

Kunavongkrit, A. and Larsson, K. 1982. Ovulation rate and embryonic migration in cross-bred gilt. Nord. Vet. Med. 34:20-24.

Langendijk, P., Bouwman, E.G., Kidson, A., Kirkwood, R.N., Soede, N.M. and Kemp, B. 2002a. Role of myometrial activity in sperm transport through the genital tract and in fertilization in sows. Reproduction. 123:683-690.

Langendijk, P., Bouwman, E.G., Soede, N.M., Taveme, M.A.M. and Kemp, B. 2002b. Myometrial activity around estrus in sows: spontaneous activity and effects of estrogens, cloprostenol, seminal plasma and clenbuterol. Theriogenology. 57:1563-1577.

Maes, D.G.D., Mateusen, B., Rijsselaere, T., Vliegher, S.D., Soom, A.V. and Kruif, A.D. 2003. Motility characteristics of boar spermatozoa after addition of prostaglandin $F_{2\alpha}$. Theriogenology. 60:1435-1443.

Matthijs, A., Engel, B. and Woelders, H. 2003. Neutrophil recruitment and phagocyosis of boar spermatozoa after artificial insemination of sows, and the effects of inseminate volume, sperm dose and specific additives in the extender. Reproduction. 125:357-367.

Matthijs, A., Harkkema, W., Engel, B. and Woelders, H. 2000. In vitro phagocytosis of boar spermatozoa by neutrophils from peripheral blood sows. J. Reprod. Fertil. 120:265-273.

Mburu, J. N., Einarsson, S., Dalin, A. M. and Rodigrez-Martinez, H. 1995. Ovulation as determined by transrectal ultrasonography in multiparous sows: Relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. J. Vet. Med.42: 285-292.

Mburu, J. N., Einarsson, S., Lundeheim, N. and Rodigrez-Martinez, H. 1996. Distribution, number and membrane intregity of spermatozoa in pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. Anim. Reprod. Sci. 45: 109-121.

Nissen, A. K., Soede, N. M., Hyttel, P., Schmidt, M. and Hoore, L. D. 1997. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigate by ultrasonography. Theriogenology. 47: 1571-1582.

Nichol, R., Hunter, R.H., Lamirande, E., Gagnon, C and Cooke, G.M. 1997. Motility of spermatozoa in hydrosalphingeal and follicular fluid of pigs. J. Reprod. Fert. 110:79-86.

Peltonieme, O. A., Tast, A. and Love, R. J. 2000. Factors affecting reproduction in the pig: seasonal effects and restricted feeding of the pregnant gilt and sow. Anim. Reprod. Sci. 60:173-184.

Polge, C. 1978. Fertilization in pig and Horse. J. Reprod. Ferti. 54:461-471.

Rath, D. 2002. Low dose insemination in the sow – a review. Reprod. Dom. Anim. 37:201-205.

Rigby, J.P. 1966. The persistence of spermatozoa at the utero-tubal junction of the sow. J. Reprod. Fertil. 11:153-155.

Roca, J., Carvajal, G., Lucas, X., Vasquez, J. M., and Martinez, E. A. 2003. Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. Theriogenology. 60:77-78.

Rodriguez-Martinez, H., Einarsson, S. And Larson, B. 1982. Spontaneous motility of hte oviduct in the anesthetized pig . J. Reprod. Fertil. 66:615-624.

Rodriguez-Martinez, H., Tienthai, P., Suzuki, K., Funahashi, H., Ekwall, H. and Johannissan, A. 2001. Involvement of oviduct in sperm capacitation and oocyte development in the pig. Reproduction. Suppl. 58:129-145.

Rozeboom, K.J. 2001. Emerging reproductive technologies in pig production. London swine conference. The Pork Industry and Public Issues. 3:47.

Rozeboom, K.J., Reicks, D.L. and Wilson, M.E. 2004. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. J. Anim. Sci. 82:2164-2168.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M. H., Hodson,H. H., Shurson, G. C. and Crabo, B. G. 2000. The importance of seminal plasma on the fertility of subsequent artificial insemination in swine. J. Anim. Sci. 78:443-448.

Soede, N.M., Noordhuizen, J.P., Kemp, B. 1992. The duration of ovulation in pigs studied by transrectal ultrasonography is not related to embryonic diversity. Theriogenology. 38:653-666.

Soede, N.M., Wetzels, C.C.H., Zondag, W., Koning, M.A.I. and Kemp, B., 1995. Effect of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. J. Reprod. Ferti. 104:99-106.

Steverink, D.W., Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B., 1997. Influence of insemination-ovulation interval and sperm cell dose on fertilization in sows. J. Reprod. Ferti. 111:165-171.

Steverink, D.W.B., Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B., 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization in sows. Anim. Reprod. Sci. 54: 109-119.

Tienthai, P. 2003. Studies on the sperm reservoir of the pig. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. p. 32.

Tienthai, P., Johannisson, A. and Rodriguez-Martinez, H. 2004. Sperm capacitation in porcine oviduct. Theriogenology. 80: 131-146.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A. 2004a. A study on the farrowing rate of purebred landrace and Yorkshire sows using a generalized, linear, mixed model. Thai. J. Vet. Med. 34:25-32.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A. 2004b. Effect of season and outdoor climate on litter size at birth in purebred landrace and Yorkshire sows in Thailand. J. Vet. Med. Sci. 66:477-482.

Viring, S. 1980. Distribution of live and dead spermatozoa in the genital tract of gilts at different times after insemination. Acta. Vet. Scand. 21:587-597.

Viring, S. and Einarrson, S. 1981. Sperm distribution within the genital tract of naturally inseminated gilts. Nord. Vet. Med. 33:145-149.

Viring, S. Einarsson, S., Jones, B. and Larson, K. 1980. Transuterine transport of small and medium sized molecules deposited in the uterus in gilts. J. Reprod. Fert. 59:459-462

Waberski, D, Weitze, KF, Gleumes, T, Schwarz, M, Willmen, T, and, Petzoldt R. 1994. Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. Theriogenology. 42:831-840.

Watson, P.F. and Behan, J.R. 2002. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of commercially based trial. Theriogenology. 57: 1683-1693.

Weitze, K.F., Wagner-Rietschel, H., Waberski, D., Richter, L. and Krieter, J. 1994. The onset ofheat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in AI timing in sows. Reprod. Dom. Anim. 29: 433-443.

Wilenburg, K.L., Miller, G.M., Rodriguez-Zas S.L. and Knox, V.R. 2003. Influence of hormone supplementation to extended semen on artificial insemination, uterine contractions, establishment of a sperm reservoir, and fertility in swine. J. Anim. Sci. 81:821-829.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ

1.1 หุ่นล่อ (Dummy)

1.2 ถุงมือ (Vinyl glove)

1.3 กระบอกเก็บน้ำเชื้อ

1.4 ผ้าก๊อซ

1.5 ถุงพลาสติกสำหรับรีดเก็บน้ำเชื้อ

1.6 ยางรัดสำหรับรัดผ้าก๊อซและถุงพลาสติกสำหรับรีดเก็บน้ำเชื้อไว้กับกระบอกน้ำเชื้อ

2. อุปกรณ์ในการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

2.1 กระดาษวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH paper)

2.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก (Balance)

2.3 กล้องจุลทรรศน์

2.4 กระจกสไลด์

2.5 กระจกปิดสไลด์ (Cover slide)

2.6 เครื่องอุ่นสไลด์ (Slide warmer)

2.7 เครื่องวัดความเข้มข้น

2.8 สีย้อม (Williams' stain)

2.9 ไมโครไปเปต

2.10 Microtip ขนาด 200 ไมโครลิตร และ ขนาด 1,000 ไมโครลิตร

2.11 น้ำมัน (Immersion oil)

2.12 กระดาษเช็ดเลนส์

2.13 น้ำยาไซลีน

3. อุปกรณ์สำหรับการละลายน้ำเชื้อ

3.1 น้ำยาละลาย (Belstville Thawing solution,BTS: Minitube, Germany)

3.2 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.3 เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic stirrer)

3.4 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.5 หลอดทดลองพลาสติก (Test tube)

3.6 แท่นวางหลอดทดลอง (Tube rack)

3.7 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.8 เทอร์โมมิเตอร์

3.9 0.9 % NaCl

3.10 ถุงพลาสติกสำหรับบรรจุน้ำเชื้อ (Cochette)

3.11 ตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับเก็บน้ำเชื้อ

4. อุปกรณ์ในการผสมเทียม

4.1 ท่อผสมเทียมชนิดสอดเข้าคอมดลูก (Golden pig® IMV, France)

4.2 ที่อผสมเทียมชนิดสอดเข้าตัวมดลูก (Deepgolden pig™ IMV, France)

4.3 น้ำเชื้อที่เจือจางแล้ว (Liquid semen)

4.4 กระติกน้ำแข็ง

4.5 เจลหล่อลื่น

5. อุปกรณ์และเวชภัณฑ์สำหรับการทำศัลยกรรม

5.1 โต๊ะผ่าตัด

5.2 อุปกรณ์สำหรับการผ่าตัด

- ผ้าหน้าต่าง
- คีมจับผ้า
- คีมหนีบเส้นเลือด
- คีมหนีบมดลูก
- คีมจับเนื้อเยื่อ
- ด้ามมีดสำหรับผ่าตัด
- ใบมีด
- กรรไกรตัดเนื้อเยื่อ
- ที่จับเข็ม
- เข็ม
- ไหม
- ที่จับเนื้อเยื่อ
- ถุงมือผ่าตัด
- มีดโกน

5.3 เวชภัณฑ์

- ยานำสลบ Azaperone
- ยาสลบ Thiopentone sodium

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- ยาชา Lidocaine HCl
- Penicillin-Streptomycin L.A.

5.4 แอลกอฮอล์

5.5 สำลี

5.6 ทิงเจอร์ไอโอดีน

5.7 น้ำเกลือ

5.8 เข็มเบอร์18 ยาว 1 นิ้ว และ 1.5 นิ้ว

5.9 ไซริงค์ขนาด 10 มิลลิลิตร

5.10 เข็มสำหรับแทงหลอดเลือด

5.11 รถเข็นสุกร

6. อุปกรณ์สำหรับเก็บ ชะล้างท่อนำไข่ และมดลูก

6.1 ถาดสำหรับใส่มดลูกและปีกมดลูก

6.2 คีมหนีบเส้นเลือด

6.3 ด้ายสำหรับผูก

6.4 0.9 % NaCl

6.5 ไซริงค์

6.6 เข็ม

6.7 กรรไกร

6.8 Centrifuge tube

6.9 บีกเกอร์

7. อุปกรณ์สำหรับการนับจำนวนตัวอสุจิจากท่อนำไข่ และปีกมดลูก

7.1 กล้องจุลทรรศน์

7.2 Counting chamber

7.3 เครื่องนับตัวอสุจิ

7.4 เครื่อง centrifuge

7.5 ไมโครปิเปต

8. อื่น ๆ

8.1 ตู้สำหรับเก็บอุปกรณ์และเวชภัณฑ์

8.2 มีดและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผ่าซาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรีดเก็บน้ำเชื้อ (semen collection)

การรีดเก็บน้ำเชื้อโดยวิธี Hand glove method โดยใช้มือด้านที่ถนัดใส่ถุงมือที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จับและบีบรัดบริเวณส่วนปลายของลึงค์ (gland penis) ตรงส่วนที่เป็นเกลียว จนกระทั่ง Penis เริ่มมีการแข็งตัว (erection) จากนั้นค่อยๆดึงลึงค์ออกมาและเบี่ยงไปทางดานข้าง แล้วใช้กระบอกรีดเก็บน้ำเชื้อ ซึ่งภายในบุด้วยถุงพลาสติก ปิดทับด้านบนด้วนผ้าก๊อส รองไว้ที่ส่วนปลายของ Penis เพื่อเก็บน้ำเชื้อ น้ำเชื้อที่หลั่งช่วงแรกเป็นส่วน Pre-sperm fraction ซึ่งจะมีลักษณะใส ส่วนที่สองจะมีลักษณะขาวขุ่น คือส่วน Sperm-Rich fraction และส่วนที่สาม ซึ่งจะมีลักษณะเม็ดสาคู

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ (sperm evaluation)

จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆด้วยกันคือ

1. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยตาเปล่า (Macroscopic evaluation) ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโดยดูจากลักษณะภายนอก

1.1.ปริมาตร (volume) ตรวจวัดโดยทำการชั่งน้ำหนัก เทียบน้ำหนักน้ำเชื้อ 1 กรัม เท่ากับปริมาตร 1 มิลลิลตร ปริมาตรน้ำเชื้อสามารถบ่งบอกได้ถึง ความสมบูรณ์ของสุขภาพของสัตว์ นอกจากนี้ความชำนาญของผู้ทำการรีดน้ำเชื้อยังมีผลต่อปริมาตรน้ำเชื้อด้วย ซึ่งปริมาตรของน้ำเชื้อสุกร ควรอยู่ในช่วง 100 - 300 มิลลิลิตร

1.2.สี (color) ตามปกติน้ำเชื้อพ่อสุกรจะเป็นจะเป็นสีขาว อาจจะปนเหลืองเล็กน้อย การตรวจสอบสีจะบอกได้ว่ามีความผิดปกติหรือไม่ น้ำเชื้อที่มีสีผิดปกติไปจะมีผลต่อตัวอสุจิได้ เช่น มีเลือด

1.3.ความหนืด ตามปกติน้ำเชื้อสุกรจะไม่ค่อยข้นนัก จะค่อนข้างคล้ายน้ำนม ในการตรวจน้ำเชื้อจะให้คะแนนและตรวจสอบความเข้มข้นของน้ำเชื้อโดยการเอียงดูว่ามีความเข้มข้นเพียงใดประกอบกับดูความใส น้ำเชื้อพ่อสุกรที่ดีควรจะมีลักษณะความเข้มข้นเหมือนนมสดหรือน้ำเต้าหู้ ไม่ควรจะขุ่น หรือใสเพราะจะบ่งชี้ว่าจำนวนตัวอสุจิมีน้อย ซึ่งความขุ่น ใสและสีของน้ำเชื้อจะสามารถบ่งบอกถึงความเข้มข้นของตัวอสุจิได้คร่าวๆ

1.4.ความเป็นกรดด่าง (PH) มักใช้กระดาษลิตมัสเป็นตัววัด ซึ่งมีช่วงอยู่ระหว่าง 6.8 – 7.8 ค่าเฉลี่ยประมาณ 7.5

2. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโดยดูผ่านกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic evaluation)

2.1.การดูการเคลื่อนไหวเฉพาะตัว (individual motility)

ทำได้โดยการหยดน้ำเชื้อ 1 หยดลงบนแผ่นสไลด์ที่วางอยู่บน warm plate ที่ตั้งอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วทำการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 200-400 เท่า ประมาณการเคลื่อนไหวเฉพาะตัวอสุจิที่เคลื่อนตรงไปข้างหน้า การตัดสินจะให้เป็นคะแนนจากเปอร์เซ็นหรือคะแนนก็ได้ ซึ่งโดยปกติแล้วเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิในสุกรควรอยู่ในช่วง 60-90 เปอร์เซ็นต์ ถ้าการเคลื่อนไหว ของตัวอสุจิในช่วงแรกหลังจากรีดไม่ถึง 60 เปอร์เซ็นต์มักจะไม่นิยมนำน้ำเชื้อนั้นมาใช้

2.2.การนับจำนวนตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (sperm count)

จะเป็นการบอกถึงความเข้มข้นของน้ำเชื้อ โดยมักจะมีการนับเป็นจำนวนตัวอสุจิต่อ 1 มิลลิลิตร หรือจำนวนต่อหนึ่งการหลั่งน้ำเชื้อ ค่าปกติของพ่อสุกรจะมีความเข้มข้นของน้ำเชื้อเฉลี่ย 200 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร หรือ 50,000 ล้านตัวต่อการหลั่งน้ำเชื้อ ซึ่งวิธีการนับตัวอสุจิอาจจะใช้ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer method) ซึ่งเป็นการนับจำนวนตัวอสุจิโดยตรงจากน้ำเชื้อที่ทำการเจือจางแล้ว และจะนำนำค่าที่นับได้มาคำนวณย้อนกลับให้เป็นปริมาตรที่ต้องการ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไป โดยจะตรวจนับตัวอย่างละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย หรือจะทำการตรวจนับโดยใช้เครื่อง spectrophotometer หรือ calorimeter (ศรีสุวรรณ, 2541)

2.3 การตรวจลักษณะของตัวอสุจิ (Sperm morphology)

การตรวจโดยการย้อมสีตัวอสุจิ จะทำให้เห็นลักษณะต่างๆของตัวอสุจิชัดเจนขึ้น สีที่ใช้ย้อมตัวอสุจิที่ดีที่สุดสำหรับการย้อมตัวอสุจิเพื่อดูลักษณะ คือ การย้อมด้วยสี คาร์บอนฟุกซิน-อีโอซิน (Carbolfuchsin-eosin staining)หรือที่มีชื่อเรียกตามผู้คิดค้นคือ การย้อมสีแบบวิลเลี่ยมเสตน (William's stain) กระบวนการย้อมมีวิธีพิเศษคือมีขั้นตอนของการใช้สารคลอรามีนที (Chloramone T 0.5%) สำหรับละลายเมือกของน้ำเชื้อที่อยู่บนแผ่นกระจกออกไป ทำให้การย้อมสีเห็นตัวอสุจิชัดเจนขึ้น ซึ่งมีวิธีการทำโดยป้ายน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วลงบนแผ่นกระจกให้บางๆ แล้วย้อมสี จากนั้นนำมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า แล้วนับจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 500 ตัว แบ่งประเภทความผิดปกติไว้และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ ในวิธีการนี้ทางห้องปฏิบัติการใช้เป็นการตรวจเฉพาะความผิดปกติของส่วนหัวเท่านั้น ส่วนอื่นใช้ตรวจโดยวิธีใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสง

การตรวจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสง วิธีนี้จะใช้น้ำเชื้อที่เก็บไว้ในฟอร์มัลซาไล (Formal saline) โดยใช้อัตราส่วนน้ำเชื้อ 1-2 หยดต่อฟอร์มัลซาไล 1 มิลลิลิตร ซึ่งการตรวจนี้เหมาะสมกับการตรวจความผิดปกติของลักษณะตัวอสุจิในรูปแบบต่างๆ ยกเว้นส่วนหัว การตรวจใช้น้ำเชื้อเจือจางหยดลงบนกระจกปิดด้วยแผ่นปิดกระจกสไลด์ และตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสงที่กำลังขยาย 500-1,000 เท่า และทำการนับตัวอสุจิ 200 ตัว จำแนกความผิดปกติแล้วนำไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายพีระพงษ์ สำราญทรัพย์ เกิดเมื่อวันที่ 17 พฤศจิกายน พ.ศ. 2513 ที่จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษาสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิตเมื่อปีการศึกษา 2538 จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายหลังสำเร็จการศึกษาได้รับการบรรจุเข้ารับราชการในตำแหน่งนายสัตวแพทย์ 4 ที่ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2538 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2545

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย