หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

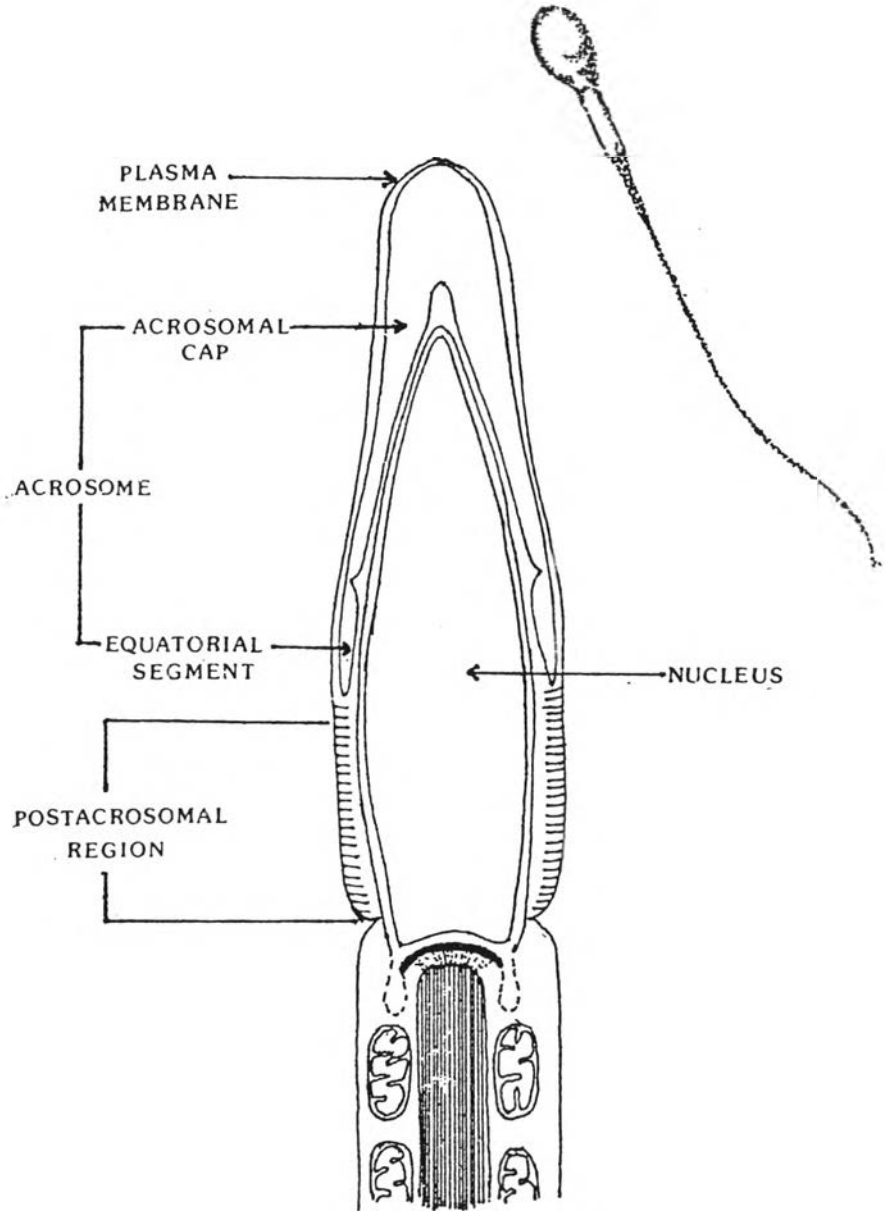
ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมทุกชนิด รวมทั้งคน พบว่าตัวอสุจินั้นมีต้นกำเนิดมาจาก primordial germ cells ของเอมบริโอ ซึ่งเปลี่ยนไปเป็น spermatogonia และเมื่อเข้าสู่วัยรุ่น spermatogonia จะแบ่งตัวแบบ mitosis เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ขึ้น เรียกใหม่ว่า primary spermatocyte และแบ่งตัวแบบ meiosis ได้เป็น haploid spermatids ซึ่งตัวอสุจินี้เปลี่ยนแปลงมาจาก spermatids การพัฒนาและเจริญจาก spermatids ไปเป็นตัวอสุจิ เกิดจากกระบวนการที่ซับซ้อนมากเรียกว่า spermiogenesis (Gier and Marian, 1970) ตัวอสุจิที่เจริญเต็มวัยเป็นเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะ แต่มีองค์ประกอบพื้นฐานเหมือนเซลล์อื่นทั่วไป ดังแสดงในรูปที่ 1.1 ตัวอสุจิที่เจริญเต็มที่แล้วจะเคลื่อนตัวออกมาจาก seminiferous tubule ไปตามท่อ Rete testis, vasa efferentia และเก็บสะสมไว้ที่ epididymis ตัวอสุจิใน epididymis ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (เช่น sea urchins) และสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นต่ำ (สัตว์น้ำ และสัตว์เลื้อยคลาน) นั้นสามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ทันที ส่วนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ตัวอสุจิจะเริ่มมีการพัฒนาความสามารถในการปฏิสนธิในขณะที่ผ่าน epididymis (Young, 1931; Nishikawa and Waide, 1952; Blandau and Rumery, 1964; Bedford, 1966; Orgebin-Crist, 1967) เรียกกระบวนการพัฒนาความสามารถในการปฏิสนธิในช่วงที่อยู่ใน epididymis นี้ว่า maturation ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านสรีรวิทยา และชีวเคมี ภายในองค์ประกอบต่าง ๆ ของตัวอสุจิ (Bedford, 1975; Hamiton, 1977)

ก่อนที่ตัวอสุจิที่อยู่ภายในท่อสืบพันธุ์เพศหญิง (female reproductive tract) จะสามารถปฏิสนธิกับไข่ได้จะต้องมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อเตรียมตัวปฏิสนธิกับไข่ซึ่ง Austin (1951) เป็นคนแรกที่ค้นพบกระบวนการเปลี่ยนแปลงนี้ และให้ชื่อว่า capacitation (Austin, 1952) และพบว่า เวลาที่ใช้ในการเกิด capacitation ในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน (ตารางที่ 1.1) เชื่อว่า capacitation นั้นเกี่ยวข้องกับการเอาโปรตีนที่ปกคลุมผิวนอกของตัวอสุจิออก (Johnson and Hunter, 1972; Oliphant and Brackett, 1973; Schill และคณะ, 1975) และการเปลี่ยนแปลงของ glycoprotein ใน plasma membrane ของตัวอสุจิ

ตารางที่ 1.1 แสดงเวลาที่ใช้ในการเกิด capacitation ของตัวอสุจิในสัตว์ชนิดต่าง ๆ

Species	times (hr)
mouse	<1
Sheep	1.5
Rat	2-3
Hamster	2-4
Pig	3-6
Ferret	3.5-11.5
Rabbit	5
Rhesus monkey	5-6
Man	5-6

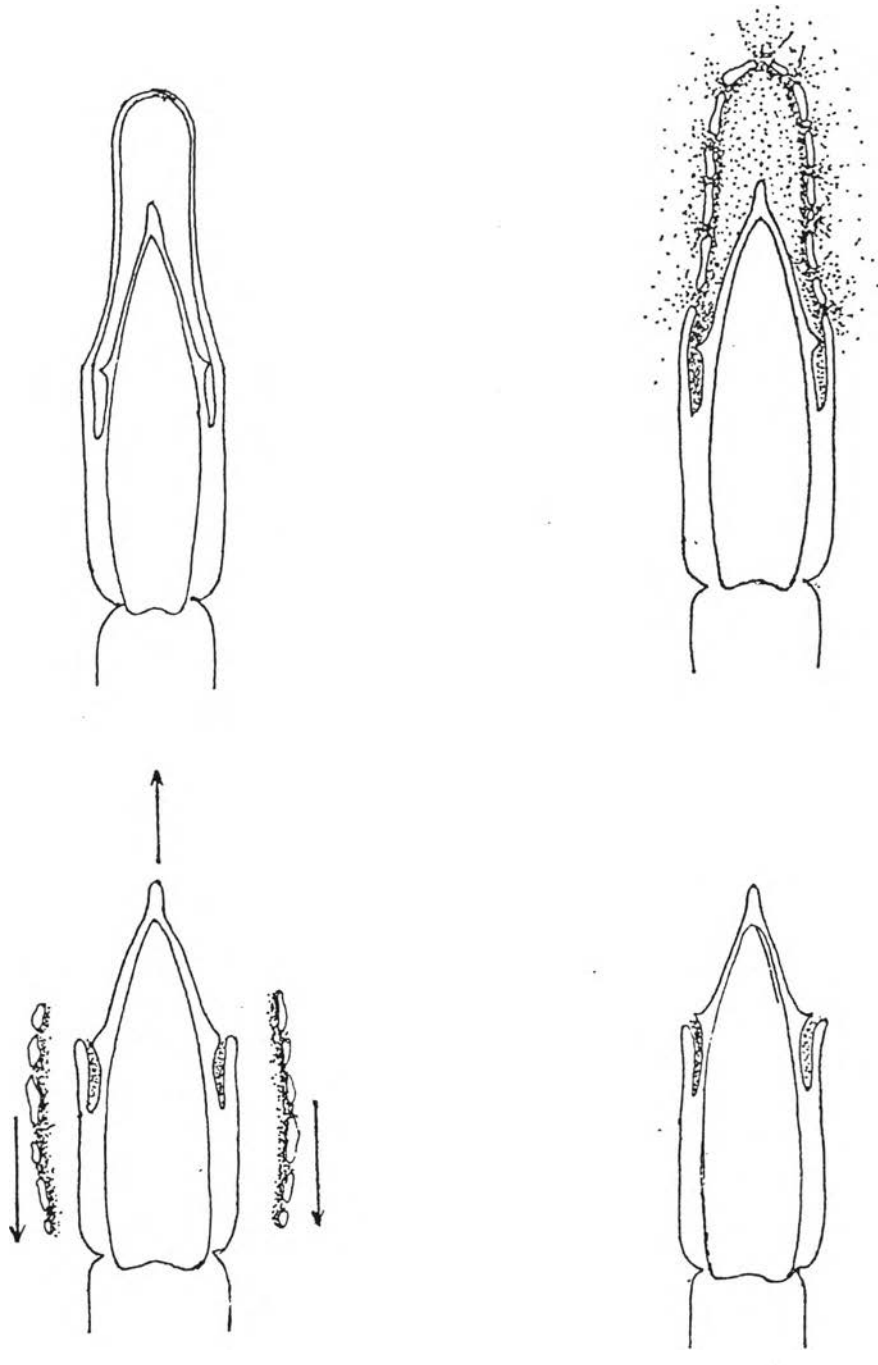
จาก Austin, 1974.



รูปที่ 1.1 แสดงลักษณะของตัวอสุจิที่เจริญเต็มที่แล้ว

(Gordon และคณะ, 1975) ส่วนตำแหน่งที่เกิดกระบวนการ capacitation ใน female reproductive tract นั้นแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด แต่โดยส่วนมากแล้ว เชื่อว่า capacitation เกิดขึ้นที่หลอดมดลูกหรือท่อนำไข่ (Oviduct) (Hunter, 1968; Zamboni, 1972; Hunter และ Hall, 1974) แต่อย่างไรก็ตามการเกิด capacitation ของตัวอสุจินั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจกันอย่างชัดแจ้งนัก ตัวอสุจิที่ผ่านกระบวนการ capacitation แล้ว จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ acrosome ซึ่งเป็น membrane-bound ที่ปกคลุมส่วนนอกของ nucleus ของตัวอสุจิ เรียกการเปลี่ยนแปลงนี้ว่า acrosome reaction ความสำคัญของการเกิด acrosome reaction ในตัวอสุจิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมนี้พบครั้งแรกโดย Austin และ Bishop (1958) โดยเขาพบว่า ก่อนที่ตัวอสุจิของหนูตะเภาและแฮมสเตอร์จะเจาะผ่านเข้าไปใน zona pellucida นั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของ acrosome โดยการเกิด multiple fusion ระหว่าง plasma membrane และ outer acrosome membrane (ดังรูปที่ 1.2) ทำให้มีการหลั่ง acrosomal enzyme เช่น acrosin ซึ่งเป็น Trypsin-like enzyme ออกมาย่อยสลาย zona pellucida เพื่อให้ตัวอสุจิผ่านเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ได้ (Meizel และ Lui, 1976) ซึ่งกระบวนการเกิด acrosome reaction นี้ต้องอาศัย Ca^{2+} และพลังงานในรูปของ ATP (Barros, 1974; Roomans, 1975; Rogers และคณะ, 1977; Santos-Saechi และ Gordon, 1980)

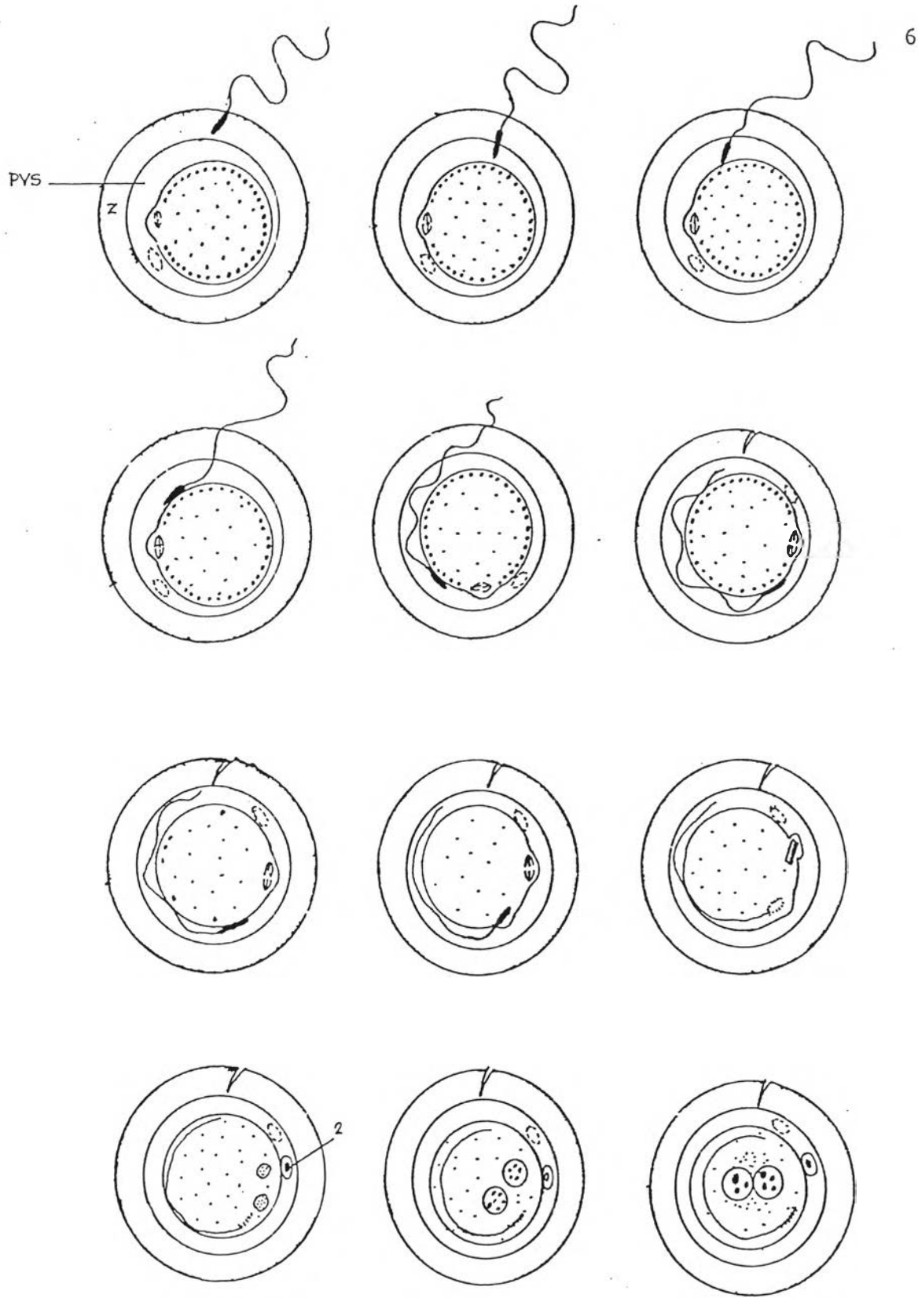
ในขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงที่ acrosome ตัวอสุจิจะมีการเปลี่ยนแปลงการพัดโบกของหางจากการพัดโบกแบบธรรมดา เป็นแบบ whiplashing. แต่อย่างไรก็ตามความสำคัญทางด้านสรีรวิทยาของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของส่วนหางนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (Johnson และ Everitt, 1983) ทันทีที่ตัวอสุจิเจาะทะลุ zona pellucida เข้าไปอยู่ใน perivitelline space ส่วนหัวของตัวอสุจิซึ่งเป็นส่วนของ nucleus จะเชื่อมติดกับ vitelline membrane ของไข่ ซึ่งเป็นการเริ่มต้นของการปฏิสนธิ (fertilization) เมื่อหัวของตัวอสุจิเข้าไปอยู่ในooplasm แล้วจะเกิด decondensation และเริ่มมีการสร้างเป็น pronuclei ของทั้งไข่และตัวอสุจิ (Yanagiimachi, 1981) ดังรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.2 แสดงการเกิดขบวนการ acrosome reaction

(จาก Yanagimachi , 1981)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.3 แสดงขบวนการปฏิสนธิระหว่างตัวอสุจิกับไข่

(จาก Yanagimachi, 1981)

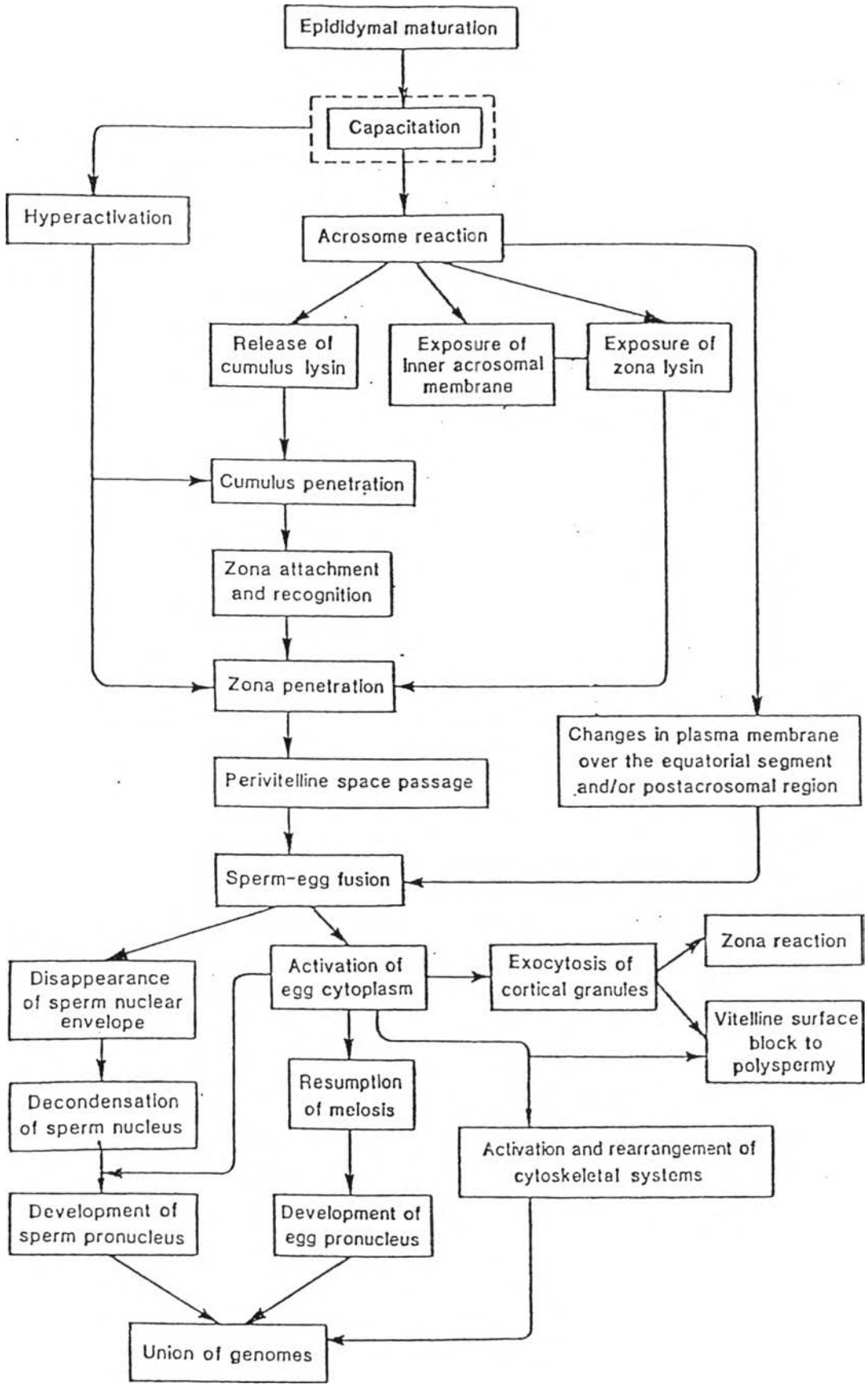
การศึกษากลไกการเกิด capacitation, acrosome reaction และการปฏิสนธิของตัวอสุจินี้สามารถทำใน in vitro ได้ ทำให้เราสามารถทราบถึงลักษณะและความสามารถของตัวอสุจิที่จะผสมกับไข่ได้ รูปที่ 1.4 แสดงถึงกระบวนการต่าง ๆ ที่สำคัญ ที่เกิดขึ้นก่อนและระหว่างการปฏิสนธิในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

<u>การใช้ไข่ที่ไม่มี zona pellucida ในการศึกษากระบวนการปฏิสนธิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม</u>

ปกติแล้วตัวอสุจิของสัตว์ชนิดหนึ่งไม่สามารถปฏิสนธิกับไข่ของสัตว์ชนิดอื่นได้ เนื่องจาก zona pellucida ซึ่งเป็น glycoprotein ที่คลุมอยู่รอบ ๆ ไข่นี้มีความเฉพาะเจาะจงที่จะยอมให้ตัวอสุจิของสัตว์ชนิดเดียวกันเจาะทะลุผ่านไปได้เท่านั้น แต่สำหรับการเชื่อมติดกันระหว่างตัวอสุจิกับ vitelline membrane ของไข่นั้น มีความเฉพาะเจาะจงน้อยกว่าที่ zona pellucida (Yanagimachi, 1977) ในปี 1962 Mintz เป็นคนแรกที่สามารถใช้ 0.5% pronase ย่อยสลาย zona pellucida ออกจากไข่ของหนูเมาซ์ได้สำเร็จ โดยที่ไข่ไม่ถูกทำลายไปด้วย ต่อมา Toyoda และ Chang (1968) นำไข่ของหนูแรทที่ไม่มี zona-pellucida มาใช้ในการศึกษา in vitro fertilization เป็นครั้งแรก ซึ่งในช่วงแรกนี้ใช้ตัวอสุจิและไข่ของสัตว์ชนิดเดียวกันในการศึกษากระบวนการปฏิสนธิเป็นส่วนใหญ่ เช่น แฮมสเตอร์ (Yanagimachi และ Noda, 1970), กระต่าย (Brackett และคณะ, 1971), หนูตะเภา (Yanagimachi, 1972) และหนูเมาซ์ (Pavlok และ McLaren, 1972)

ในปี 1972 เป็นปีแรกที่เริ่มมีการศึกษาแบบ cross-species โดย Yanagimachi พบว่า ตัวอสุจิของหนูตะเภา สามารถเจาะทะลุเข้าไปในไข่ของแฮมสเตอร์ที่ไม่มี zona pellucida ได้ จากผลการศึกษาของ Yanagimachi นี้จึงเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญ ที่ช่วยให้นักวิทยาศาสตร์หลายท่านสนใจนำไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มี zona pellucida (Zona-free hamster egg) ไปศึกษาการปฏิสนธิของตัวอสุจิในสัตว์ชนิดอื่น ๆ อีกหลายชนิด ได้แก่ หนูตะเภา, หนูเมาซ์ (Hanada และ Chang, 1972, 1976 b; Pavlok, 1979), deer mouse, กระต่าย (Hanada และ Chang, 1978), หมู (Imai และคณะ, 1977; Pavlok, 1981; Smith และคณะ, 1983), วัว (Hanada และ Nagase, 1981; Bousquet และ Brackett, 1982; Brackett และคณะ, 1982), แพะ (Kim และคณะ, 1980), ม้า

รูปที่ 1.4 แสดงถึงขบวนการต่าง ๆ ที่สำคัญที่เกิดขึ้นก่อนและระหว่างการปฏิสนธิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (จาก Yanagimachi, 1981)



(Brackett และคณะ, 1982), ค้างคาว (Lambert, 1981), ปลาโลมา (Fleming และคณะ, 1981), marmoset monkey (Moore, 1981), rhesus monkey (Boatman และ Bavister, 1984), cynomolgus monkey (Hoffman และ Curtis, 1984) และแกะ (Graham และคณะ, 1987) รวมทั้งตัวอสุจิของคนด้วย (Yanagimachi, 1976) ส่วนตาราง ที่ 1.2 แสดงผลของการศึกษาโดยใช้ zona-free egg ของสัตว์ 6 ชนิด ผสมกับตัวอสุจิของสัตว์ชนิดเดียวกันและต่างชนิดกัน

การใช้ zona-free hamster egg ในการทดสอบความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิคน

การประเมิน male fertility โดยทั่วไปนิยมใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิโดยกล้องจุลทรรศน์ (Semen analysis) ซึ่งจะแสดงถึง ปริมาตรน้ำอสุจิ (semen volume), ความหนาแน่นของตัวอสุจิ (sperm density), ลักษณะรูปร่าง (morphology), การเคลื่อนไหว (motility) และระดับความเร็วของการเคลื่อนไหว (grade of progression) แต่อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจินี้ไม่สามารถบอกถึงความสามารถของตัวอสุจิในการปฏิสนธิกับไข่ได้ ซึ่งการตรวจสอบความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจินั้น ควรจะบ่งบอกถึงความสามารถในการ 1) เคลื่อนที่ไปถึงตำแหน่งของการปฏิสนธิในท่อสืบพันธุ์ของเพศหญิงได้, 2) ผ่านกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction, 3) เจาะทะลุผ่านเซลล์ที่หุ้ม oocyte (cumulus oophorus และ zona pellucida), 4) ผสมกับ oocyte 5) การสร้าง DNA และการเกิด male และ female pronuclei และ 6) การเจริญเติบโตของเอมบริโอ ที่เป็นปกติ (Bedford, 1981) นักวิจัยหลาย ๆ ท่านจึงได้พยายามศึกษาหาวิธีการทดสอบการปฏิสนธิของตัวอสุจิโดยตรง เช่น การทำ post-coital test (Sims-Huhner test) โดยการให้ตัวอสุจิเจาะทะลุเข้าไปในเยื่อมูกปากมดลูกของคนใน in vivo (Jaszezak และ Hafez, 1976), Kremer test ซึ่งเป็นการทดสอบการเจาะผ่านเยื่อมูกปากมดลูกของคน (Human cervical mucus) หรือของวัว (Bovine cervical mucus) ใน in vitro (Alexander, 1981; Gaddum-Rosse และคณะ, 1980; Moghissi และคณะ, 1982) ซึ่งการทดสอบทั้งสองอย่างนี้ เพียงแต่แสดงให้เห็นถึงความสามารถของตัวอสุจิในการเคลื่อนที่เข้าไปในตำแหน่งที่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้นได้เท่านั้น การที่จะทดสอบความสามารถของตัวอสุจิในข้อ 3 และ 4 นั้น จึงต้องใช้ in vitro fertitization system มาทำการ

ตารางที่ 1.2 แสดงผลการศึกษาการเจาะทะลุไข่ที่ไม่มีโซนา โดยตัวอสุจิของสัตว์ชนิดเดียวกัน และต่างชนิดกัน

spermatozoa	Zona-free egg					
	Golden hamster	chinese hamster	Mouse	Rat	guinea pig	rabbit.
Golden hamster	Yes	No	Yes,No	No	Yes	No
Chinese hamster	-	Yes	-	-	-	-
Mouse	Yes	-	Yes	Yes	Yes	Yes
Deer mouse	Yes	-	No	No	-	-
Rat	Yes	-	Yes,No	Yes	-	Yes
Guinea pig	Yes	-	No	No	Yes	No
Bat	Yes	-	-	-	-	-
Rabbit	Yes	-	-	-	-	Yes
Dog	No	-	-	-	-	-
Dolphin	Yes	-	-	-	-	-
Pig	Yes	-	-	-	-	-
Bull	Yes	-	-	-	-	-
Goat	Yes	-	-	-	-	-
Horse	Yes	-	-	-	-	-
Mamoset monkey	Yes	-	-	-	-	-
Human	Yes	No	No	No	No	-

(จาก Yanagimachi, 1984)

ทดสอบโดยตรง แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังเป็นปัญหาทางด้านศีลธรรมและจริยธรรม สำหรับการศึกษาในคน Overstreet และ Hembree (1976) พยายามหลีกเลี่ยงปัญหานี้โดยการใช้ non-living human oocytes แทน แต่การเตรียมไข่ของคนนั้นเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก จึงไม่สามารถนำมาใช้ทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการได้ ในปีเดียวกันนี้เอง Yanagimachi และคณะ (1976) เป็นคณะแรกที่พบว่า ตัวอสุจิของคนก็สามารถเจาะทะลุเข้าไปใน zona-free hamster egg ได้เช่นเดียวกับตัวอสุจิของสัตว์ชนิดอื่น นักวิจัยหลายท่านจึงเริ่มหันมาสนใจวิธีของ Yanagimachi ในการศึกษาความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิ ซึ่ง Barros และคณะ (1978) เป็นคณะแรกที่นำวิธีการทดสอบนี้มาใช้ประเมินความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิจากคนที่มีผลการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิเป็นปกติและไม่ปกติพบว่า ในคนที่ผลการวิเคราะห์น้ำอสุจิปกติ มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ (penetration rate 76%) สูงกว่าในคนที่มีผลการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิไม่ปกติ (penetration rate 34%) ต่อมานักวิจัยหลายท่านจึงทำการศึกษาการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ เพื่อประเมินภาวะการมีบุตรได้ของคนมากขึ้น (Rogers และคณะ, 1979; Binor และคณะ, 1980, Karp และคณะ, 1981; Martin และ Tayler, 1982; Stenchever และคณะ, 1982; Albertsen และคณะ, 1983) แต่อย่างไรก็ตาม การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถใช้ประเมินหน้าที่หรือคุณสมบัติของตัวอสุจิได้ทั้งหมด แต่เชื่อว่าสามารถประเมินความสามารถของตัวอสุจิในการ 1) ผ่านกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction ซึ่งจากการศึกษาทาง Ultrastructure ของตัวอสุจิที่เจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์พบว่า ตัวอสุจิทั้งหมดที่สามารถเจาะทะลุเข้าไปใน ooplasm ของไข่แฮมสเตอร์ได้นั้นจะต้องผ่านกระบวนการ acrosome reaction แล้วทั้งสิ้น (Acrosome-reacted spermatozoa) (Koehler และคณะ, 1982; Talbot และ Chacon, 1982; Gould และคณะ, 1983), 2) การรวมตัวกับ plasma membrane ของไข่ซึ่ง Chacon และ Talbot (1980) รายงานว่า plasma membrane ของส่วน equatorial segment และ postacrosomal region ของตัวอสุจิ จะเป็นส่วนที่เชื่อมติดกับ plasma membrane ของไข่ และ 3) การสร้าง male pronuclei (ดูรวบรวมรายงานของ Yanagimachi, 1984)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์

จากตารางที่ 1.3 จะเห็นว่าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ในคนที่สามารถมีบุตรได้ (fertile men) มีพิสัยกว้างมาก คือตั้งแต่ร้อยละ 0-100 ทั้งนี้ส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากนักวิจัยแต่ละท่านใช้วิธีการในการศึกษาการทดสอบที่แตกต่างกัน เพราะการเปลี่ยนแปลงวิธีการทดสอบจะทำให้ผลของการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เปลี่ยนแปลงไปด้วย ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ได้แก่

1) ช่วงห่างของการเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิ (Abstinence time) Rogers และคณะ (1983 a) รายงานว่า ถ้าลดช่วงห่างของการหลั่งน้ำอสุจิ (abstinence time) จาก 48ชั่วโมงเหลือ 24 และ 12 ชั่วโมง จะมีผลทำให้อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ลดลง ถึงแม้ว่า จำนวนตัวอสุจิและการเคลื่อนไหวจะลดลงหรือไม่ก็ตาม แต่ถ้าเว้นการหลั่งน้ำอสุจินานขึ้น (เช่น 5 วัน) พบว่า ไม่มีผลต่ออัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ เขาจึงเสนอแนะว่า ช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิไม่ควรน้อยกว่า 48 ชั่วโมง และช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ ระหว่าง 2-5 วัน

2. Seminal plasma Berger และคณะ (1983 b) รายงานว่า ตัวอสุจิที่อยู่ใน seminal plasma เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง จะให้ผลการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ต่ำกว่าตัวอสุจิที่อยู่ใน seminal plasma เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมงก่อนนำมาทำการทดสอบ เช่นเดียวกับที่ Rogers และคณะ (1983 a) พบว่า ถ้าให้ตัวอสุจิอยู่ใน seminal plasma นานมากกว่า 30 นาที จะทำให้อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ลดลง. จากการศึกษาพบว่า ใน seminal plasma มีสารพวก macromolecule ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 10,000 dalton มีผลไปยับยั้งการเกิดกระบวนการ capacitation ของตัวอสุจิ จึงทำให้ตัวอสุจิไม่สามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ (Kanwar และคณะ, 1979; Van der Ven, 1982) ดังนั้นก่อนที่จะทำการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ จึงจำเป็นต้องแยกตัวอสุจิออกจากสารเหล่านี้เสียก่อน.

3. Preincubation หรือ capacitation time พบว่าตัวอสุจิของคนสามารถเกิดกระบวนการ capacitation ใน in vitro ได้ (Dukelow และ Chernoff, 1968; Soupart และ Morgenstern, 1973) แต่ต้องใช้เวลานาน และขึ้นกับปัจจัยอื่น ๆ ด้วย เช่น ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่อยู่ในน้ำเพาะเลี้ยง, ความเข้มข้นของ serum albumin ที่ผสมในน้ำเพาะเลี้ยงและสภาพแวดล้อมที่ใช้อบเลี้ยงตัวอสุจิ โดยทั่วไปจะอบเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศา-

ตารางที่ 1.3 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิจากคนปกติ

investigators	number of men	Percent eggs penetrated	
		Mean ± S.D.	(Range)
Menge and Black(1979)	3	67 ± 5	-
Rogers et al (1979)	21	56	(14-100)
Overstreet et al (1980)	6	-	(11-100)
Hall (1981)	22	66	(20-100)
Karp et al (1981)	25	-	(15-96)
Tyler et al (1981)	15	62 ± 20	(24-89)
Zausner-Guelman et al(1981)	9	81 ± 26	(15-100)
Aitken et al (1982)	35	44 ± 3	(14-90)
Cohen et al (1982)	26	54	(11-100)
Albertsen et al (1983)	11	45 ± 27	(0-90)
Wickings et al (1983)	30	49 ± 16	(15-82)
Johnson and Alexander (1984)	9	-	(12-64)
Hamdi et al (1985)	21	53 ± 23	(20-96)
Fredericks et al (1987)	33	54 ± 4	(19-100)
This study	15	41 ± 13	(20-69)

เซลเซียส และมีความเข้มข้นของกาซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ส่วนเวลาที่ใช้ในการเกิด capacitation นั้นแตกต่างกัน คือตั้งแต่ 1 ชั่วโมง (Barros และคณะ, 1979) จนถึง 18-20 ชั่วโมง (Rogers และคณะ, 1979; Tyler และคณะ, 1981, Cohen และคณะ, 1982) Hirshel และ Mixon (1983) รายงานว่า การอบเลี้ยงตัวอสุจิ ในช่วงเวลาสั้นๆ (7 ชั่วโมง) จะให้ผลการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มากกว่าการอบเลี้ยงตัวอสุจิไว้นาน ๆ (18 ชั่ว-โมง) ในทางตรงกันข้าม Johnson และ Alexander (1984) พบว่า อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงไว้นาน 20 ชั่วโมง จะสูงกว่าของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงไว้นานเพียง 7 ชั่วโมงก่อนผสมกับไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการ capacitation นั้นจะแตกต่างกันในแต่ละบุคคล (Perreault และ Rogers, 1982) โดยทั่วไปแล้วนักวิจัยส่วนมากมีความเห็นว่าใช้ preincubation period ที่นาน (18-20 ชั่ว-โมง) จะเหมาะสมและให้ผลดีมากกว่าช่วงเวลาสั้น ๆ (Gould และคณะ, 1983; Hall, 1981; Hamdi และคณะ, 1985; Margalioth และคณะ, 1986; Dyonne Van Duren และคณะ, 1987; Van Kooij และคณะ, 1986)

4. <u>ความหนาแน่นของตัวอสุจิที่อยู่ในน้ำเพาะเลี้ยงที่ใช้ผสมกับไข่</u> ในการศึกษาการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่ใช้ผสมกับไข่แฮมสเตอร์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจาะทะลุเป็นอย่างมาก Martin และ Tayler (1983) ศึกษาหาความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ โดยใช้ความเข้มข้นของตัวอสุจิตั้งแต่ $5x10^4$ ตัว/มล. จนถึง 10^7 ตัว/มล. พบว่าที่ความเข้มข้น 10^7 ตัว/มล. ให้ผลการเจาะทะลุไข่สูงสุด ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับที่ Tyler และคณะ (1981) ได้ทำการศึกษาไว้ก่อนแล้วคือ ประมาณ 10^6-10^7 ตัว/มล. แต่ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่นักวิจัยทั้งสองกลุ่มนี้ใช้ศึกษาเป็นความเข้มข้นของตัวอสุจิเป็นและตัวอสุจิตายรวมกัน ต่อมา Albert และคณะ (1986) จึงได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ (motile spermatozoa) ในคนปกติ 3 คน พบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้สูงขึ้น ($5x10^6$ ตัว/มล.) อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ก็สูงขึ้นด้วย ดังนั้นการศึกษาการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมส-เตอร์ จึงใช้ความเข้มข้นของตัวอสุจิประมาณ $5-10x10^6$ ตัว/มล.

5. <u>วิธีการเตรียมไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา</u> นักวิจัยส่วนมากเก็บไข่จากแฮมสเตอร์ที่โตเต็มที่ โดยการกระตุ้นให้มีการตกไข่หลายใบ (Superovulation) ด้วยการฉีดฮอร์โมน Pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) และ Human chorionic

gonadotropin (hCG) และเก็บไข่ 15-17 ชั่วโมงหลังฉีด hCG นักวิจัยบางท่านสามารถเก็บไข่ที่แก่เต็มที่จากแฮมสเตอร์ที่ยังไม่โตเต็มที่ (immature hamster) และให้ผลการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เช่นเดียวกันกับไข่ที่ได้จากแฮมสเตอร์ที่โตเต็มที่แล้ว (Yanagimachi และ Chang, 1964; Tyler และคณะ, 1981) และยังพบว่า การเก็บไข่ระหว่างเวลา 16-18 ชั่วโมงหลังฉีด hCG (ภายใน 5 ชั่วโมงหลังมีการตกไข่) จะให้ผลการทดสอบการเจาะทะลุสูงกว่าการเก็บไข่หลังฉีด hCG เป็นเวลานานกว่านี้ (20-22 ชั่วโมงหลังฉีด hCG) (Berger และคณะ, 1983 a) แต่ยังไม่มีหลักฐานที่น่าเชื่อถือได้ว่าแฮมสเตอร์ที่ยังไม่โตเต็มที่จะให้ไข่ที่มีจำนวนมากกว่า และมีคุณภาพดีกว่าไข่ที่ได้จากแฮมสเตอร์ที่โตเต็มที่แล้ว และมีวงจรสัดเป็นปกติ.

วิธีการแยก cumulus oophorus ออกจากไข่ ส่วนมากใช้เอ็นไซม์hyaluronidase ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้จาก bovine testis และใช้เอ็นไซม์ trypsin ซึ่งเป็น proteolytic enzyme ย่อยสลาย zona pellucida จากการศึกษาพบว่า หลังจากใช้ trypsin ย่อย zona pellucida แล้ว plasma membrane ของไข่ยังคงมีคุณสมบัติในการผสมกับตัวอสุจิได้ แต่อย่างไรก็ตาม การที่ไข่อยู่ในเอ็นไซม์ trypsin หรือ proteolytic enzyme ชนิดอื่น ๆ เป็นเวลานาน อาจมีผลทำให้ลดความไว (sensitivity) ของการทดสอบลงได้ (Hirao และ Yanagimachi, 1978) จากการศึกษาของ Hoshi และคณะ (1982 a) พบว่า การใช้ trypsin หรือ mercaptoethanol ในการย่อยสลาย zona pellucida จะให้ผลการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูงกว่าการใช้ proteotytic enzyme ชนิดอื่น ๆ (ตารางที่ 1.4)

6. <u>ส่วนประกอบของน้ำเพาะเลี้ยงและสภาพของการอบเลี้ยง</u> น้ำเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการศึกษาการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ส่วนมากไม่ว่าจะเป็น modified Tyrode's หรือ Krebs-Ringer's salt solution จะมีสารประกอบที่เป็นแหล่งพลังงาน ได้แก่ กลูโคส แลคเตท และไพรูเวท และมีซีรั่มอัลบูมินเป็นสารประกอบโปรตีน ช่วยส่งเสริมการเกิด capacitation และ acrosome reaction ของตัวอสุจิให้เร็วขึ้น (Lui และคณะ, 1977) อัลบูมินที่ใช้ส่วนมากเป็น human serum albumin แต่นักวิจัยบางท่านใช้ bovine serum albumin (Menge และ Black, 1979; Hall, 1981; Karp และคณะ, 1981; Zausner-Guelman และคณะ, 1981; Cohen และคณะ, 1982) แต่พบว่า bovine serum albumin มีสารประกอบบางอย่างที่สามารถทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบใน seminal plasma

014486

ตารางที่ 1.4 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์หลังจากย่อยสลายโซนาเพลลูซิดา ด้วยสารชนิดต่าง ๆ

Agent (Concentration)	treatment period (min)	Percent eggs penetrated
Trypsin (0.1%)	3	76
	20	76
Pronase (0.05%)	3	63
	20	54
α-Chymotrypsin (0.1%)	3	64
	20	51
Diapase (300 IU/ml)	3	61
	20	63
Mercaptoethanol (50 mM)	3	76
	20	83
Dithiothreitol (25 mM)	3	26
	20	13

(จาก Hoshi และคณะ, 1982)

ซึ่งอาจเป็น spermine หรือ polyamines อื่น ๆ ได้ เกิดเป็นสารประกอบที่มีพิษต่อตัวอสุจิและไข่ (Quinn และ Stanger, 1980) ความเข้มข้นของอัลบูมินในน้ำเพาะเลี้ยงมีตั้งแต่ร้อยละ 0.3 ถึง 3.5 แต่จากการศึกษาของ Gould และคณะ (1983) พบว่าน้ำเพาะเลี้ยงที่มีอัลบูมินในความเข้มข้นสูง (3.5%) สามารถชักนำให้เกิด acrosome reaction และการเจาะทะลุไข่ดีกว่าในน้ำเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของอัลบูมินน้อย ๆ (0.3%) Berger และคณะ (1983) พบว่าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เพิ่มขึ้นในน้ำเพาะเลี้ยง (Ham's F-10) ที่มี human preovulatory serum ร้อยละ 10 ได้มากกว่าน้ำเพาะเลี้ยงที่มี human serum albumin ร้อยละ 0.5 และยังสามารถ maintain sperm motility ได้นานกว่าด้วย (De Yi Liu และคณะ, 1986) ในการศึกษาการปฏิสนธิในหลอดทดลองในคน (Human in vitro fertilization) พบว่าตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยงที่มี human preovulatory serum สามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ดี และมีชีวิตอยู่ได้เป็นเวลานาน (Lopata และคณะ, 1980; Marrs และคณะ, 1982; Leung และคณะ, 1984)

เกี่ยวกับการใช้สารประกอบที่เป็นแหล่งพลังงานนั้นพบว่า อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมเตอร์ไม่แตกต่างกันในตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยงที่ไม่มี กลูโคส, ไพรูเวท และ แลคเตท กับในน้ำเพาะเลี้ยงที่มีสารเหล่านี้รวมอยู่ด้วย แสดงให้เห็นว่า ตัวอสุจิสามารถใช้สารประกอบที่เป็นแหล่งพลังงานจากภายในตัวมันเองได้ (Hoshi และคณะ, 1982) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าถ้าอบเลี้ยงตัวอสุจิไว้เป็นเวลานาน (10-20 ชั่วโมง) ก่อนนำไปผสมกับไข่ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเติมสารกลูโคส, ไพรูเวทและแลคเตทในน้ำเพาะเลี้ยง เพื่อให้ตัวอสุจิมีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นเวลานาน

ระดับความเข้มข้นของสารละลาย (Osmolality) ในน้ำเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์นั้นอยู่ในช่วงระหว่าง 285-410 mOsm/kg Aitken และคณะ (1983) ศึกษาเปรียบเทียบน้ำเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ที่มีระดับ osmolality และความเข้มข้นของซีรั่มอัลบูมินที่ระดับต่าง ๆ พบว่า การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลาย (410 mOsm/kg) ในน้ำเพาะเลี้ยง BWW ที่มีความเข้มข้นของซีรั่มอัลบูมินร้อยละ 0.3 แล้วนำมาใช้อบเลี้ยงตัวอสุจิเป็นเวลานาน 6 ชั่วโมงก่อนผสมกับไข่แฮมสเตอร์ที่ไม่มีโซนา จะให้ผลการเจาะทะลุไข่สูงกว่าของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในน้ำเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของสารละลายต่ำ (305

mOsm/kg) แต่อย่างไรก็ตามนักวิจัยหลายท่านไม่สนับสนุนให้ใช้น้ำเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของสารละลายสูง (hypertonic medium) นี้ เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย 410 mOsm/kg นี้ไม่ใช่ระดับปกติทางสรีรวิทยา และไม่สามารถ maintain sperm motility ได้ดีเท่ากับน้ำเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของสารละลายประมาณ 300 mOsm/kg

ระดับ pH ของน้ำเพาะเลี้ยง ก็มีผลต่อการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เช่นเดียวกัน พบว่าระดับ pH ที่เหมาะสมคือประมาณ 7.4-7.6 Tyler และคณะ (1981) ศึกษาเปรียบเทียบผลของ gas phase ต่อการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ พบว่า การเจาะทะลุไข่ของตัวอสุจิที่อบเลี้ยงในอากาศธรรมดาจะเกิดขึ้นเร็วกว่าตัวอสุจิที่อบเลี้ยงใน 5% CO_2 และพบว่าระดับ pH ของน้ำเพาะเลี้ยงที่ใช้อบเลี้ยงตัวอสุจิในอากาศมีค่าประมาณ 8.2 ส่วนน้ำเพาะเลี้ยงที่อยู่ในตู้อบที่มี 5% CO_2 มี pH ที่ระดับ 7.2 แต่อย่างไรก็ตาม การที่ตัวอสุจิอยู่ในน้ำเพาะเลี้ยงที่มีระดับ pH สูงเป็นเวลานาน ๆ จะเกิดผลเสียต่อตัวอสุจิมากกว่า และระดับของ pH ของน้ำเพาะเลี้ยงที่มี $NaHCO_3$ เป็น buffer นี้จะคงที่อยู่ได้ต้องอยู่ในตู้อบที่มีความเข้มข้นของกาซคาร์บอนไดออกไซด์คงที่ด้วย (Yanagimachi, 1984)

7. Co-incubation period ช่วงเวลาของการอบเลี้ยงตัวอสุจิคนและไข่แฮมสเตอร์ไว้ด้วยกันนั้นอยู่ระหว่าง 2-5 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามยังขึ้นกับเวลาที่ใช้อบเลี้ยงตัวอสุจิก่อนผสมกับไข่ด้วย (preincubation period) เช่น ถ้าอบเลี้ยงตัวอสุจิไว้นาน (18-20 ชั่วโมง) พบว่า ต้องการเวลาในการอบเลี้ยงตัวอสุจิและไข่ไว้ด้วยกันเพียง 2-3 ชั่วโมงเท่านั้น ก็สามารถได้ผลการเจาะทะลุไข่สูงสุด (Van Kooij และคณะ, 1986)

การประเมินภาวะ fertility และ infertility ด้วยการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์

โดยทั่วไปแล้วพบว่า ตัวอสุจิของคนปกติ (fertile men) มักมีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูง มากกว่าร้อยละ 10 (พิสัย 10-100) ในขณะที่ตัวอสุจิของคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้ (infertile men) มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ไม่เกินร้อยละ 10-15 (Rogers และคณะ, 1979; Hall, 1981; Karp และคณะ, 1981, Overstreet และคณะ, 1980; Tyler และคณะ, 1981) แต่อย่างไรก็ตามในคนที่สามารถมีบุตรได้ อาจมีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ต่ำได้เช่นกัน (Stenchever และคณะ, 1982) การที่มีอัตราการเจาะทะลุไข่

แฮมสเตอร์สูงนี้ เพียงแต่แสดงให้เห็นว่าตัวอสุจิสามารถผ่านกระบวนการ capacitation และ acrosome reaction และสามารถรวมตัวกับ plasma membrane ของไข่ได้ ซึ่งความสามารถเหล่านี้จำเป็นสำหรับตัวอสุจิในการปฏิสนธิกับไข่ แต่ไม่ได้หมายว่าเป็นความสามารถทั้งหมดของตัวอสุจิ เพื่อที่จะปฏิสนธิกับไข่ภายในร่างกาย (in vivo) นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูงกว่าร้อยละ 10-15 โอกาสที่คนนั้นจะสามารถมีบุตรได้เองสูง (Hammond และคณะ, 1982) ดังนั้นจึงพิจารณาแบ่งระดับของอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ที่มากกว่าร้อยละ 10-15 ขึ้นไป ให้เป็นอัตราการเจาะทะลุของตัวอสุจิในคนที่ปกติ (Pryor และคณะ, 1981)

<u>ความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับผลการตรวจวิเคราะห์น้ำอสุจิ</u>

นักวิจัยส่วนมากไม่พบว่า มีความสัมพันธ์กันระหว่างอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับปริมาตรน้ำอสุจิ, ความหนาแน่นของตัวอสุจิ, เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้หรือแม้แต่เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติ (Zausner-Guelman และคณะ, 1981; Cohen และคณะ, 1982; Albertsen และคณะ, 1983; Swanson และคณะ, 1984; Tang และคณะ, 1984) แต่มีบางคนพบว่า อัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มีความสัมพันธ์กับ จำนวนตัวอสุจิในน้ำอสุจิ, เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติ (Wickings และคณะ, 1983; Hamdi และคณะ, 1985) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนที่ได้ (Hall, 1981; Van-Duren และคณะ, 1987; Van der Ven, และคณะ, 1986) Aitken และคณะ (1982a,b,c) ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้ พบว่าตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วมากกว่า 25 ไมโครเมตร/วินาที และมี amplitude of head displacement น้อยกว่า 10 ไมโครเมตร จะมีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์สูง ทั้งในคนปกติและในคนที่ไม่สามารถมีบุตรได้

<u>ความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับการเจาะผ่านเยื่อมูกปากมดลูก</u>

การเจาะผ่านเยื่อมูกปากมดลูก (cervical mucus penetration) เป็นสิ่งจำเป็นอย่างหนึ่งสำหรับตัวอสุจิในการปฏิสนธิกับไข่ และถึงแม้ว่า การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์และการเจาะผ่านเยื่อมูกปากมดลูก จะเป็นการทดสอบคุณสมบัติของตัวอสุจิที่แตกต่างกัน แต่อย่าง

ไรก็ตามพบว่าการทดสอบทั้งสองอย่างนี้มีความสัมพันธ์กันอยู่บ้าง แม้จะไม่มากนัก (Soules และคณะ, 1982; Rogers และคณะ, 1983 b; Takemoto และคณะ, 1985)

ความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับการปฏิสนธิในหลอดทดลอง

Overstreet และคณะ (1980) ได้พยายามศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเจาะทะลุผ่าน non-living zona-intact human eggs กับ living zona-free hamster eggs. พบว่าตัวอสุจิที่สามารถเจาะทะลุไข่ของคนได้ ก็จะสามารถเจาะทะลุไข่แฮม-สเตอร์ได้เช่นกัน (23 คนใน 27 คน) ในการศึกษาการปฏิสนธิในหลอดทดลองในคนนั้นสามารถทำการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ไปด้วยพร้อม ๆ กัน โดยใช้ตัวอย่างน้ำอสุจิเดียวกัน จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์และการปฏิสนธิในหลอดทดลอง พบว่า มีความสัมพันธ์กันสูงมาก (Wolf และคณะ, 1983; Foreman และคณะ, 1984; Ausmanas และคณะ, 1984; Berger และคณะ, 1984; Van-Uem และคณะ, 1985) Margalioth และคณะ (1983) รายงานว่า คนไข้ 7 คนจาก 20 คน มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ต่ำกว่าปกติ (ร้อยละ 0-8) และไม่สามารถปฏิสนธิกับไข่ของคนได้ (ร้อยละ 0) ในขณะที่ 13 คนที่มีอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ปกติ (ร้อยละ 20-100) พบว่าร้อยละ 77 สามารถปฏิสนธิกับไข่ของคนในหลอดทดลองได้อย่างน้อยที่สุด 1 ใบ ดังนั้นจะเห็นว่าการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ เหมาะที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกผู้ป่วยในกรณีที่มีปัญหา infertility ของฝ่ายชายหรือโดยไม่ทราบสาเหตุ (unexplained infertility) ก่อนนำมาใช้ทำการปฏิสนธิในหลอดทดลอง

การนำการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มาใช้ประโยชน์ในการศึกษาอื่น ๆ

ดังที่กล่าวแล้วว่า ตัวอสุจิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม จะเริ่มมีการพัฒนาความสามารถในการปฏิสนธิ (maturation) ในขณะที่ยังอยู่ใน epididymis แต่จะเกิดขึ้นในส่วนใดของ epididymis นั้น ในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน สำหรับในคน นักวิจัย 2 กลุ่มได้พยายามใช้การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์มาศึกษากระบวนการ maturation ของตัวอสุจิว่าเกิดขึ้นในส่วนใดของ epididymis Hinrichsen และ Blaquier (1980) พบว่า กระบวน

การ maturation ของตัวอสุจิคนเกิดขึ้นในส่วนของ caput epididymis ในขณะที่ Moore และคณะ (1983) พบว่า maturation ของตัวอสุจิคนเริ่มเกิดขึ้นที่ส่วนต้นของ corpus epididymis (ตารางที่ 1.5)

การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์นี้ยังสามารถใช้ประเมินความสามารถของ antisperm antibodies ต่อการยังยั้งกระบวนการปฏิสนธิของตัวอสุจิคนด้วย (Menge และ Black, 1979; Tsukui และคณะ, 1986; Primakoff และ Hyatt, 1986) ประมาณร้อยละ 10-20 ของคู่สมรสที่มีปัญหามีบุตรยากโดยไม่ทราบสาเหตุ พบว่ามี antisperm antibodies อยู่ในเลือด หรือ/และในสารคัดหลั่งจากท่อสืบพันธุ์ของเพศหญิง (Menge และ Behrman, 1980) เชื่อว่า antisperm antibodies นี้มีผลทำให้เกิด agglutination และทำให้ตัวอสุจิไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ จึงไม่สามารถเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ได้

นอกจากนี้การทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ยังสามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบผลการรักษาว่าได้ผลดีหรือไม่ เช่น การใช้การวิเคราะห์น้ำอสุจิร่วมกับการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์ตรวจสอบความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดยการผ่าตัด varicocele (Mygatt และคณะ, 1982) หรือการรักษาผู้ป่วยที่เป็นหมันเนื่องจากการติดเชื้อโรคในระบบสืบพันธุ์ด้วยยา doxycycline (Berger และคณะ, 1983) และ/หรือ Kallikrein (Comhaire และ Vermeulen, 1983) พบว่าอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์เพิ่มขึ้นภายหลังการรักษาด้วยยาแล้ว

ประโยชน์ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์คือ ใช้ในการศึกษาวิเคราะห์หาชนิดและความผิดปกติของ chromosome ของตัวอสุจิคนโดยตรง (Rudak และคณะ, 1978; Martin และคณะ, 1982, 1983) การค้นหา chromosome ที่ผิดปกติ โดยวิธีนี้ยังมีประโยชน์ในการประเมินผลของยาคุมกำเนิดและสารอื่น ๆ ที่มีผลต่อ chromosome ของตัวอสุจิ รวมทั้งการเกิดภาวะ infertility และการศึกษาความผิดปกติทาง gene ของ chromosome ของเอมบริโอด้วย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1.5 แสดงอัตราการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์โดยตัวอสุจิที่อยู่ในส่วนต่าง ๆ ของ epididymis ของคน

Region of the epididymis where sperm were collected	percent hamster eggs penetrated	
	Hinrichsen and Blaquier (1980)	Moore et al (1983)
Caput	3	0
Corpus, proximal	-	11
Corpus, distal	8	15
Cauda	34	43
Ejaculated sperm	-	68

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์กับลักษณะต่าง ๆ ของตัวอสุจิของคนในน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม

2. เพื่อศึกษาลักษณะและความสามารถในการเจาะทะลุไข่ของตัวอสุจิในชายที่ภรรยากำลังตั้งครรภ์ เปรียบเทียบกับของตัวอสุจิในชายที่ไม่มีบุตรหรือมีบุตรยาก

ความสำคัญและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงชนิดของน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการคัดเลือกตัวอสุจิ และการทดสอบการเจาะทะลุไข่แฮมสเตอร์

2. ทราบถึงลักษณะของตัวอสุจิที่มีประสิทธิภาพ เพื่อนำไปใช้ในการปฏิสนธิในหลอดทดลอง และการผสมเทียม

3. สามารถประเมินความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ของตัวอสุจิของคน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการแก้ปัญหาการมีบุตรยาก